

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

---

## SUR LE MÉCANISME DE L'INFECTION TUBERCULEUSE EXPÉRIMENTALE

par A. BOQUET, J. VALTIS et A. SAENZ.

*(Laboratoire de M. le professeur Calmette à l'Institut Pasteur.)*

(PREMIER MÉMOIRE)

Lorsqu'on essaie de schématiser le mécanisme de l'infection tuberculeuse, on pose généralement en principe que les bacilles de Koch, quels que soient leur nombre et leur virulence, prolifèrent plus ou moins rapidement dans les tissus où ils ont été introduits et qu'ils provoquent, après une période d'incubation plus ou moins longue, des lésions locales, inflammatoires ou folliculaires, dont la structure et le mode de dégénérescence caractérisent leur action pathogène. On admet également que ces lésions locales s'accompagnent toujours d'une adénopathie satellite et que la barrière ganglionnaire la plus proche suspend temporairement la dissémination des germes. Dans la suite, les bacilles gagnent les lymphatiques efférents, colonisent dans tous les ganglions échelonnés sur leur parcours et, finalement, pénètrent dans la circulation sanguine. Déversés dans le cœur droit, ils sont lancés dans la petite circulation qui

les conduit aux capillaires pulmonaires. Nombre d'entre eux se trouvent ainsi retenus dans les poumons où ils ne tardent pas à devenir la source de nouveaux tubercules et à contaminer les ganglions du hile. Ceux qui ont échappé au filtre pulmonaire reviennent au cœur gauche et le sang de la grande circulation les disperse dans l'organisme tout entier.

On peut faire varier presque à l'infini les caractères de l'infection tuberculeuse, en activer le cours ou le ralentir, restreindre son stade lymphatique primaire à une adénopathie trachéo-bronchique en injectant des bacilles dans les poumons, ou le supprimer au moyen de l'inoculation intraveineuse. Le schéma se simplifie, mais il conserve ses lignes essentielles : quel que soit le mode d'inoculation adopté, quelles que soient les doses et la virulence des bacilles, l'infection tuberculeuse expérimentale aboutit invariablement à la bacillémie et se termine toujours par une granulie généralisée.

Si l'on adopte cette formule, on se trouve conduit à admettre que la tuberculose, en dehors de l'infection par la voie veineuse, évolue en trois stades. Le premier correspondrait à la formation du chancre d'inoculation et de l'adénopathie correspondante. Ranke désigne cette phase initiale sous le nom de *stade de primo-infection*. Le second serait le *stade lymphatique*, qui se caractériserait par la progression centripète des bacilles dans les voies lymphatiques et par l'organisation successive de foyers tuberculeux dans les groupes ganglionnaires traversés. Le troisième, enfin, débiterait par la bacillémie, qui détermine la généralisation granulique de l'infection.

L'étude de la dispersion bacillaire et du développement des lésions prouve que cette conception ne traduit pas correctement la marche extensive de la tuberculose expérimentale. Sans doute l'examen macroscopique des animaux inoculés par la voie sous-cutanée, par exemple, démontre qu'une lésion s'édifie au lieu même où les bacilles ont été déposés, que les ganglions tributaires, puis ceux de la chaîne ganglionnaire efférente se prennent tour à tour et que, plus tard, la rate, le foie et les poumons, dans l'ordre, se couvrent de nodules. Mais cette floraison successive de tubercules n'est que l'épanouissement tardif, la phase terminale des réactions tissulaires à l'invasion microbienne.



Il suffit, en effet, comme S. Delépine, Ehlecker, Calmette et Grysez et, plus récemment, Allen Krause et H. Willis l'ont tenté, de suivre, de jour en jour, les progrès de l'infection, par l'examen bactériologique et par l'inoculation à des animaux neufs des ganglions interposés sur le parcours des bacilles et de fragments de viscères, pour mettre en évidence ce fait qu'une partie des germes inoculés gagnent rapidement la circulation lymphatique et la circulation sanguine et qu'ils atteignent les organes profonds avant que la moindre lésion locale se révèle à l'œil nu.

Le problème de l'infection tuberculeuse apparaît ainsi infiniment plus complexe que ne le laissaient entrevoir les données classiques. Loin de se résumer dans une proposition dynamique élémentaire, l'imprégnation bacillaire de l'organisme se poursuit, avec une intensité variable, presque depuis le moment de l'inoculation jusqu'à l'envahissement total des tissus réceptifs. A la source originelle de la dissémination, — c'est-à-dire le foyer initial, — s'ajoute bientôt, ou peut-être se substitue, la multitude des foyers folliculaires qui se développent dans les ganglions lymphatiques et dans les viscères. C'est du nombre de ces foyers, éclos dans la première phase de la maladie, de leur perméabilité aux bacilles qu'ils renferment et de la rapidité de leur extension périphérique que dépend la gravité de la tuberculose expérimentale.

Au premier examen, il semble que l'organisme du cobaye et du lapin subisse passivement cette invasion et que les processus réactionnels qui se manifestent autour des bacilles traduisent uniquement la nocivité des poisons microbiens pour les éléments anatomiques : en dehors des obstacles mécaniques qui entravent plus ou moins sa dissémination, et des conditions bio-chimiques du milieu humoral et cellulaire, qui peuvent ralentir son développement, le bacille de Koch se multiplierait et coloniserait aussi librement *in vivo* que dans les milieux artificiels.

Cette comparaison, en réalité, n'est à peu près exacte que pour les *infections massives*, qui progressent sans répit vers une généralisation totale, car le tableau clinique et anatomo-pathologique change lorsque les animaux ne reçoivent qu'un petit nombre de germes. Chez le cobaye, la lésion locale que produit

l'inoculation sous-cutanée d'une faible dose de bacilles virulents s'édifie lentement et reste close, parfois même elle fait défaut, et le ganglion satellite s'hypertrophie graduellement. Pendant plusieurs semaines ou même plusieurs mois, les viscères restent indemnes de toute altération macroscopique, bien que leur virulence témoigne qu'ils sont largement contaminés. A partir de la quatrième semaine, ou plus tardivement selon l'importance des doses inoculées, la réaction tuberculinique se montre positive et, dans la suite, son intensité augmente rapidement.

Si, après ce délai, on inocule aux mêmes animaux une dose plus forte de bacilles *dans le derme*, ils répondent presque immédiatement par une réaction nécrotique, c'est-à-dire par un *phénomène de Koch*. Mais cette surinfection est inopérante et ne s'étend pas au delà du ganglion le plus proche : même avant l'apparition de toute lésion viscérale, le cobaye tuberculeux devient donc à la fois hypersensible aux protéines bacillaires et réfractaire au bacille de Koch. Cependant l'infection chronique dont il souffre poursuit sa marche progressive; en dépit d'une immunité qui lui permet de résister aux surinfections exogènes les plus virulentes, ses organes se tuberculisent tour à tour et il succombe quelques mois plus tard avec des lésions confluentes, généralisées.

\*  
\* \*

Nous essaierons, dans ce mémoire, de décrire les modalités de la dispersion bacillaire dans l'organisme du cobaye et du lapin; de suivre le cheminement des bacilles depuis le point où ils pénètrent dans les tissus jusqu'au moment où la lymphe et le sang les disséminent dans les viscères; enfin de déterminer les conditions et les caractères de la bacillémie, ses rapports avec le foyer initial et les foyers secondaires, sa précocité, son intensité et son influence sur l'évolution ultérieure du processus tuberculeux.

L'étude du rôle pathogène des décharges bacillaires, lymphatiques et sanguines, qui menacent incessamment l'organisme, nous conduira à examiner comment les animaux tuberculeux réagissent à de nouvelles inoculations virulentes et dans quelle mesure ils parviennent à localiser, à éliminer ou à détruire les



germes de surinfection. Quelques expériences comparatives, effectuées dans les mêmes conditions avec le bacille paratuberculeux de la fiéole, nous permettront de donner sur ce point des indications plus précises.

Il serait excessif d'appliquer les résultats de nos recherches à la maladie naturelle où interviennent des conditions particulières, liées au mode de l'infection et à la résistance variable des sujets qu'elle atteint. Nous pensons, néanmoins, que les notions ainsi acquises peuvent aider à mieux saisir le mécanisme de l'infection tuberculeuse dans ses aspects les plus généraux.

### I. — Dispersion des bacilles tuberculeux et des bacilles paratuberculeux inoculés par la voie sous-cutanée.

Si artificielle qu'elle soit — puisqu'elle n'intervient que d'une manière exceptionnelle dans l'étiologie de la tuberculose humaine et des tuberculoses animales — l'infection sous-cutanée offre cependant cet avantage sur les autres modes d'inoculation qu'elle permet de suivre, jour par jour, la marche des lésions.

Chez le cobaye, celles-ci s'étendent, dans un ordre presque immuable, de la périphérie au centre, et elles entraînent toujours la mort dans un délai qui varie de quelques semaines à plusieurs mois et même plus d'une année, selon la dose et la virulence des germes. Voici, en quelques mots, ce qu'on observe après l'inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 01 de bacilles très pathogènes, tels que ceux de la souche bovine isolée par H. Vallée.

Du sixième au dixième jour, il se produit un léger empatement local et les ganglions inguinaux superficiels correspondants se tuméfient. Puis ces ganglions s'hypertrophient de plus en plus jusqu'à atteindre le volume d'un gros pois, ou davantage, et, au lieu même de l'inoculation, un abcès se forme, qui s'ouvre au bout de trois ou quatre semaines pour faire place à un ulcère. Ce chancre d'inoculation s'agrandit peu à peu, suppure abondamment et persiste jusqu'à la mort

de l'animal qui survient entre le deuxième et le troisième mois. A l'autopsie des cobayes morts avant la fin de la deuxième semaine, on ne trouve pas de lésions viscérales macroscopiques: seule la tuméfaction des ganglions sous-lombaires, du côté inoculé, et celle des ganglions trachéo-bronchiques indiquent qu'un certain nombre de germes se sont déjà dispersés dans l'organisme. Après ce délai, la rate augmente de volume et se couvre d'une multitude de petits nodules qui s'accroissent

TABLEAU I (d'après S. Delépine).

NUMÉROS • du stade de l'infection	DURÉE de chaque stade (inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 01 de bacilles au niveau de l'articulation fémoro-tibiale)	ORGANES  présentant des lésions macroscopiques
1. . . . .	10 jours.	Tissu sous-cutané au lieu de l'inoculation et ganglion poplité correspondant.
2. . . . .	40 jours.	Ganglions inguinaux superficiels et profonds correspondants; ganglion sous-lombaire homologue; ganglion rétro-hépatique et rate.
3. . . . .	15 jours.	Foie, poumons, ganglions trachéo-bronchiques, ganglions pré-scapulaires et cervicaux des deux côtés.
4. . . . .	Durée variable.	Invasion des ganglions lymphatiques des deux côtés jusqu'aux ganglions inguinaux opposés.

peu à peu, se caséifient et bossèlent l'organe de plus en plus hypertrophié. Des lésions plus diffuses, sous la forme de foyers étalés, blanc-jaunâtres, apparaissent ensuite sur le foie et, finalement, de très fins tubercules grisâtres, translucides, se développent dans les poumons.

Lorsqu'on inocule des doses inférieures à 0 milligr. 00001, le chancre d'inoculation fait souvent défaut, mais l'adénite régionale est constante et les lésions viscérales évoluent en quatre à six mois ou davantage, dans l'ordre précédemment indiqué.

En résumé, envahissement progressif du système lymphatique, depuis la région inoculée jusqu'aux ganglions trachéo-bronchiques, et granulie extensive; lésions caséieuses, d'abord



nodulaires, puis confluentes, de la rate; altérations nécrotiques diffuses et dégénérescence du foie; tubercules pulmonaires tardifs et disséminés; exceptionnellement, épanchements dans les séreuses.

Ces différents épisodes de l'infection bacillaire du cobaye, consécutive à l'inoculation sous-cutanée, se succèdent avec une régularité telle que Sh. Delépine y distingue quatre phases nettement caractérisées (Tableau I).

Quelle que soit sa gravité et sa durée, il semble donc que l'infection tuberculeuse s'étende par vagues successives, séparées par des intervalles plus ou moins longs. Mais cette hypothèse, qui se fonde uniquement sur des constatations nécropsiques, est inexacte. Si, en effet, quelques jours ou même quelques heures après que des bacilles ont été introduits dans le derme ou dans le tissu conjonctif sous-cutané, on excise largement la peau de cette région et les ganglions lymphatiques correspondants, comme l'ont fait S. Arloing, Kœnigsfeld et, plus récemment, Löwenstein et Hosomi, on constate que la progression des germes n'est pas interrompue par cette opération et que les animaux ainsi infectés succombent avec les mêmes lésions généralisées et presque dans les mêmes délais que les témoins.

TABLEAU II (d'après OEhlecker).

NOMBRE DE JOURS après l'inoculation sous-cutanée	VIRULENCE DES ORGANES PRÉLEVÉS				
	Ganglion iliaque	Ganglion para- aortique	Ganglions trachéo- bronchiques	Poumons	Rate
1 jour. . . . .	—	—	—	—	—
5 jours . . . . .	+	—	—	+	+
7 jours . . . . .	+	+	—	+	—
11 jours . . . . .	+	+	+	+	+
14 jours . . . . .	+	+	+	+	+

Une autre preuve de l'imprégnation rapide de l'organisme résulte de ce fait, mis en évidence pour la première fois par OEhlecker, que, dès le cinquième jour après l'inoculation sous-cutanée au cobaye, la rate et les poumons deviennent virulents, bien qu'ils soient indemnes de lésions visibles à l'œil nu.

En réalité, la dispersion des bacilles s'effectue plus rapidement encore. Selon Sh. Delépine, le ganglion poplité correspondait se montrerait virulent dès la quarante-huitième heure après l'inoculation sous-cutanée ; les ganglions inguinaux superficiels entre la soixante-douzième et la quatre-vingt-seizième heure et la rate entre la quatre-vingt-seizième et la cent vingtième heure. H. Kœnigsfeld a même réussi à déceler des bacilles dans le tissu conjonctif sous-jacent, quarante-huit heures après qu'il les eût déposés sous la peau épilée et rasée ; quatre jours plus tard, les ganglions régionaux étaient contaminés.

Dans le dessein de comparer les caractères de la primo-infection du cobaye avec ceux de la surinfection, Allen Krause a accompli une longue série de recherches sur les voies de la dissémination du bacille de Koch et sur la durée de sa migration depuis le derme ou le tissu conjonctif sous-cutané jusqu'aux viscères profonds. Il ressort des expériences qu'il a effectuées, soit seul, soit avec H. Willis, que les bacilles tuberculeux, lorsqu'ils sont inoculés à dose massive sous la peau, se répandent d'abord dans les voies lymphatiques, et que l'infection se généralise très rapidement. Entre le troisième et le cinquième jour après l'inoculation dans la région de l'aîne, on trouve des bacilles dans les ganglions inguinaux, dans la rate et dans les ganglions trachéo-bronchiques. Des altérations microscopiques peuvent être décelées le quatrième jour dans les ganglions iliaques et le douzième jour dans les ganglions trachéo-bronchiques. Les germes introduits dans le derme se disperseraient même dans les tissus environnants en moins de trois heures, et ils atteindraient les ganglions régionaux entre la dixième et la vingt-quatrième heure. Dans le même ordre d'idées, Valtis a constaté, en 1926, que le quatrième jour après l'injection sous-cutanée au cobaye de 1 milligramme de bacilles bovins, tous les organes deviennent virulents. Lorsqu'on inocule une dose mille fois plus faible (0 milligr. 001), l'infection des ganglions inguinaux, de la rate, des poumons et des ganglions trachéo-bronchiques ne se manifeste que le cinquième jour.

Bien qu'ils aient insisté sur « la rapidité étonnante avec laquelle un nombre même relativement restreint de bacilles est amené par la lymphe au delà du point d'inoculation »



(A. Krause), il ne semble pas que ces auteurs se soient préoccupés d'étudier ce qu'ils considéraient implicitement comme la seconde phase de la dispersion bacillaire, c'est-à-dire la bacillémie. Pourtant, l'importance du passage du bacille de Koch dans la circulation sanguine n'était pas restée méconnue depuis qu'Empis avait individualisé le syndrome anatomo-clinique de la granulie, et le problème de la bacillémie avait été posé dans toute son ampleur : « Le bacille tuberculeux, s'étaient demandé, en 1914, L. Bernard, R. Debré et L. Baron, est-il souvent rencontré dans le sang des malades? Ne fait-il qu'y passer ou y séjourne-t-il facilement? Sous quelles influences s'effectue son passage dans le sang? Quel rôle revient à la bacillémie dans l'infection tuberculeuse de l'homme? »

D'après les recherches déjà anciennes de Jeannel (1888), le bacille de Koch peut être retrouvé dans le sang vingt-quatre heures après l'inoculation sous-cutanée. Mais cette opinion fut combattue par Kuss (1894) et par Bergeron (1904), qui ne parvinrent jamais à déceler des bacilles dans le sang, aussi bien après l'inoculation péritonéale qu'après l'inoculation sous-cutanée.

Il est cependant hors de doute que l'infection successive des organes résulte de décharges bacillaires intermittentes ou continues que Breton, Massol et Duhot (1913), au laboratoire de Calmette, réussirent à mettre nettement en évidence. En transfusant à des cobayes neufs la totalité du sang de cobayes prélevé un, deux, quatre, dix, quinze, trente, quarante, soixante jours après une inoculation virulente sous-cutanée, ces auteurs ont constaté, en effet, que la bacillémie débute vingt-quatre heures après l'infection, qu'elle persiste pendant une dizaine de jours et qu'elle cesse ensuite pour réapparaître à des intervalles plus ou moins longs. Elle est d'autant plus fréquente et plus durable que les bacilles sont plus virulents et que la dose inoculée a été plus forte. Cette intermittence de la bacillémie a été également signalée par L. Bernard, R. Debré et L. Baron qui, n'ayant trouvé que 6 fois sur 19 le bacille de Koch dans le sang de cobayes tuberculisés par inoculation sous-cutanée, conclurent de leurs expériences que la bacillémie est inconstante chez les animaux infectés par toute autre voie que la voie sanguine.

Interrompues par la guerre, les recherches sur la bacillémie

tuberculeuse expérimentale ont été reprises depuis par Löwenstein en Autriche et par l'école de Sata au Japon. Hosomi (1926), dont les observations furent confirmées par Mijaki, a ainsi prouvé que, chez le cobaye, le bacille de Koch pénètre dans la circulation sanguine une, deux ou trois heures après qu'il a été introduit sous la peau, et que la bacillémie diminue dans les heures qui suivent, pour réapparaître plus abondante trois ou quatre jours plus tard. L'irruption des bacilles dans le sang surviendrait même plus rapidement encore, surtout chez les jeunes cobayes, puisque l'amputation du membre à la base, trente minutes après l'inoculation à l'extrémité de la patte, n'empêche pas le développement de la tuberculose.

Même si l'on admet avec A. Krause que le transfert des bacilles s'effectue par l'intermédiaire des lymphatiques efférents vers le plexus sous-abdominal et de là au canal thoracique qui les conduit au confluent des jugulaires, puis au cœur droit, aux poumons et au cœur gauche, on est tenté de conclure de ces expériences que l'infection tuberculeuse du cobaye par la voie sous-cutanée se caractérise par l'ensemencement presque simultané des ganglions lymphatiques et des viscères. L'inoculation virulente sous-cutanée devrait donc déterminer, après un délai plus ou moins long, une granulie, générale d'emblée, dont l'évolution ne différerait en rien du processus granuleux que provoque l'inoculation intraveineuse d'une faible dose de bacilles. Or, il n'en est rien : sauf dans le cas d'inoculations massives, les lésions ganglionnaires et viscérales que produit l'inoculation sous-cutanée, loin d'apparaître simultanément et d'évoluer avec la même vitesse, se succèdent, dans un ordre presque invariable, des ganglions régionaux aux ganglions éloignés, de la rate au foie et enfin aux poumons.

Ce chapitre de nos recherches a pour objet de préciser les caractères de la bacillémie tuberculeuse, de suivre ses variations selon l'importance de l'inoculation virulente et de déterminer si les lésions viscérales procèdent davantage d'un ensemencement précoce et direct par la voie sanguine, que d'un essaimage local, tardif et continu des germes issus des foyers initiaux, ou si elle résulte de la combinaison de ces deux processus.



A. — DISPERSION DES BACILLES TUBERCULEUX INOCULÉS AU COBAYE  
A DOSE MASSIVE.

TECHNIQUE. — Dans toutes les expériences qui suivent, nous avons employé des bacilles bovins très virulents (souche Vallée, cultures sur pomme de terre âgées d'un mois), mis en suspension dans de l'eau physiologique, après dissociation fine au moyen de billes de verre, et injectés sous le volume de 0 c. c. 3 sous la peau de la face plantaire d'une des pattes postérieures, la pointe de l'aiguille dirigée vers la base du doigt médian. Ce procédé, que nous avons déjà adopté pour l'étude de l'action pathogène locale du BCG et de la dispersion de la bactérie charbonneuse, permet d'éviter la contamination directe des ganglions lymphatiques les plus proches par la suspension virulente.

A des intervalles variables après cette inoculation, on extrait, par ponction du cœur, 8 à 10 cent. cubes de sang que l'on injecte immédiatement, en parties égales, à deux cobayes dans le tissu conjonctif sous-cutané du creux de l'aîne. Aussitôt après la saignée, on sacrifie l'animal, on le flambe largement avec la flamme d'un bec Bunsen pour stériliser son tégument et on prélève successivement le ganglion poplité de la patte inoculée, les ganglions inguinaux superficiels et profonds et le ganglion sous-lombaire correspondant, la rate entière, un fragment de foie de 5 à 6 grammes, le lobe postérieur d'un des poumons et les ganglions trachéo-bronchiques, qui sont broyés séparément au mortier avec du sable, mis en suspension dans 5 ou 6 cent. cubes d'eau physiologique et injectés à doses égales sous la peau de deux cobayes. Toutes ces opérations sont naturellement pratiquées aussi aseptiquement que possible avec des instruments que l'on stérilise dans l'eau bouillante après chaque prélèvement.

EXPÉRIENCE I. — On inocule à plusieurs cobayes, sous la peau de la face plantaire de la patte postérieure gauche, 3 milligrammes de bacilles bovins en suspension dans 0 c. c. 3 d'eau physiologique. Puis quinze minutes, trente minutes, quarante-cinq minutes, deux heures après, on sacrifie ces animaux par ponction cardiaque et on prélève leur ganglion poplité gauche, leurs ganglions inguinaux gauches que l'on injecte séparément, après broyage, à des cobayes neufs.

TABLEAU III.

PRODUITS INOCULÉS	INTERVALLES ENTRE L'INFECTION et les prélèvements et résultats des inoculations			
	15 minutes	30 minutes	45 minutes	2 heures
Sang . . . . .	0	0	+	+
Ganglion poplité . . . . .	+	+	+	+
Ganglions inguinaux . . . . .	+	+	+	+
Poumons . . . . .	0	+	0*	0

*Nota.* — Le signe 0\* indique que les animaux sont morts de maladie intercurrente, moins de quatre semaines après l'inoculation. Le signe + indique que les animaux sont morts de tuberculose. Le signe 0 indique que les animaux sont restés indemnes de tuberculose.

Tels qu'ils ressortent du précédent tableau, les résultats de cette expérience démontrent que les bacilles tuberculeux lorsqu'ils sont introduits sous la peau à la dose massive de 3 milligrammes franchissent en moins de quinze minutes le deuxième relai ganglionnaire interposé sur leur parcours centripète et qu'ils pénètrent dans la circulation sanguine entre la trentième et la quarante-cinquième minute après l'inoculation. L'organisme tout entier du cobaye se trouve ainsi largement imprégné plusieurs jours avant que se manifestent les premiers signes locaux de l'infection (réaction inflammatoire et abcédation, adénopathie satellite).

Que les bacilles fassent irruption directement dans les capillaires déchirés par le traumatisme de l'inoculation — ce qui est peu probable puisque le sang ne devient virulent qu'après une incubation de plus de trente minutes — ou qu'ils empruntent d'abord la voie lymphatique qui les conduit jusqu'au cœur, la bacillémie débute d'une façon si discrète qu'un des cobayes inoculés avec le sang prélevé à la quarante-cinquième minute après l'inoculation est resté indemne et que le second, sacrifié six mois plus tard, ne présentait, pour toute lésion, que quelques nodules disséminés à la surface de la rate, du foie et des poumons. Mais elle augmente si rapidement dans la suite que les cobayes auxquels on injecte 3 ou 4 cent. cubes de sang prélevé deux heures après l'infection succombent en quatre mois à quatre mois et demi, dans les mêmes délais et avec les mêmes lésions généralisées que des



cobayes témoins inoculés sous la peau avec 0 milligr. 00001 de la même culture virulente.

Notons également que les animaux qui avaient reçu dans la patte 3 milligrammes de bacilles ont présenté, dès la troisième semaine, une véritable granulie splénique, alors que leurs poumons étaient restés, en apparence, indemnes. L'ordre de la généralisation du processus tuberculeux consécutif à l'inoculation sous-cutanée est donc inverse de celui de la granulie d'abord pulmonaire, puis splénique, que provoque l'inoculation intraveineuse ou intracardiaque d'une dose même mille fois plus faible de bacilles.

#### B. — DISPERSION DES BACILLES TUBERCULEUX INOCULÉS AU COBAYE A DOSE FAIBLE.

Si l'on se fondait uniquement sur les constatations qui précèdent, on pourrait supposer que la tuberculose, produite chez le cobaye par l'inoculation sous-cutanée, est une infection générale d'emblée, dont la gravité serait d'autant plus grande et l'évolution plus rapide que la bacillémie a été plus importante. En réalité, la précocité et l'abondance de la dispersion hématogène du bacille de Koch sont étroitement liées aux conditions artificielles et forcées de l'inoculation massive. Les expériences énoncées dans le tableau ci-après (Tableau IV) démontrent, en effet, que les bacilles introduits sous la peau, à la dose relativement faible de 0 milligr. 001, ne pénètrent dans la grande circulation que d'une manière intermittente, accidentelle, dans la première phase de l'infection.

EXPÉRIENCE II. — Inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 001 de bacilles virulents sous la peau de la face plantaire postérieure gauche (voir tableau IV).

Dès la deuxième heure après l'inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 001 de bacilles, des germes peuvent donc être décelés dans les ganglions lymphatiques régionaux. Bien que la virulence du sang soit exceptionnelle au cours du premier septénaire, puisqu'elle n'a pu être mise en évidence qu'une seule fois, néanmoins quelques éléments pénètrent dans la circulation sanguine au début de l'infection et se fixent dans les organes éloignés, où nous les avons trouvés, dans un cas, à la vingt-

sixième heure. L'infection pulmonaire, qui devient manifeste le neuvième jour, précède l'infection des ganglions trachéo-bronchiques. Entre le neuvième et le quatorzième jour, tous les organes sont envahis, et les lésions macroscopiques progressent ensuite dans l'ordre habituel, des ganglions poplité et inguinaux au ganglion sous-lombaire homologue, de la rate

TABLEAU IV.

INTERVALLES entre les inoculations et les prélèvements	RÉSULTATS DES INOCULATIONS				
	Sang	Ganglions poplité et inguinal gauches	Ganglions trachéo- bronchiques	Poumons	Rate
30 minutes . . . . .	0	0	0	0	0
60 minutes . . . . .	0	0	0	0	0
2 heures . . . . .	0	+	0	0	0
4 heures . . . . .	0	+	0	0	0
7 heures . . . . .	0	+	0	0	0
26 heures . . . . .	0	+	0	0	+
48 heures . . . . .	0	+	0	0	0
72 heures . . . . .	0	+	0	0	0
6 jours . . . . .	+	+	0	0	0
9 jours . . . . .	0	+	0*	+	0*
14 jours . . . . .	0	+	+	+	+

0\*, cobayes morts avant la quatrième semaine.

au foie et aux poumons. Les animaux succombent entre le troisième et le quatrième mois avec des lésions massives généralisées.

#### C. — DISPERSION DES BACILLES TUBERCULEUX DANS L'ORGANISME DU LAPIN.

Presque réfractaire au bacille humain, même lorsqu'il est inoculé par la voie veineuse, le lapin se montre également beaucoup moins réceptif que le cobaye aux bacilles bovins introduits sous la peau. Le protocole d'identification de ces deux types bacillaires exige, comme chacun sait, que l'on inocule, au minimum, 1 milligramme de germes par cette voie. Cependant, des expériences maintes fois répétées nous ont prouvé qu'une dose de 0 milligr. 01 de bacilles bovins,



inoculée sous la plante d'une des pattes postérieures, provoque une infection lentement progressive qui permet de suivre aisément la dispersion des bacilles et leur fixation ultérieure dans les différents organes.

EXPÉRIENCE III. — Inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 01 de bacilles bovins virulents à un lot de lapins sous la plante de la patte postérieure gauche. On sacrifie ensuite ces animaux à divers intervalles et on inocule séparément leurs organes broyés à des cobayes.

TABLEAU V.

INTERVALLES entre l'infection et les prélèvements	RÉSULTATS DES INOCULATIONS AUX COBATES				
	Ganglion poplité	Ganglions trachéo- bronchiques	Poumons	Rein	Rate
25 minutes . . . . .	+	0	0	0	0
30 minutes . . . . .	+	0	0	+	0
6 h. 1/2 . . . . .	+	0	0	0	0
24 heures . . . . .	+	0	0	0	0
4 jours . . . . .	+	0	0	0	0
8 jours . . . . .	+	0	+	0	+
14 jours . . . . .	+	0	0	+	+
26 jours . . . . .	+	+	+	0	0
34 jours . . . . .	+	+	+	+	+

En comparant ce tableau avec les précédents, on peut constater que les bacilles tuberculeux, lorsqu'on les inocule sous la peau, aux mêmes points et à des doses presque égales par rapport au poids des animaux, se dispersent d'une manière presque identique dans l'organisme du cobaye et dans celui du lapin. Mais les lésions viscérales ne se développent pas dans le même ordre et, chez le lapin, elles ne deviennent perceptibles, sauf dans le ganglion régional, que plusieurs semaines après le début de la bacillémie. Certains organes même, comme la rate, restent parfois indemnes de toute altération macroscopique, bien que leur virulence au huitième jour de l'infection témoigne qu'ils ont été largement imprégnés de bacilles.

Si, en effet, on sacrifie à divers intervalles les lapins ainsi inoculés, on ne trouve, jusque vers la sixième ou la huitième semaine, aucune lésion sur la rate, les reins, les poumons et les ganglions lymphatiques qui drainent la lymphe de ces vis-

cères; par contre le ganglion poplité atteint le volume d'une noisette et contient du pus caséux riche en bacilles. Au cours du troisième mois, quelques fines granulations se dessinent à la surface des poumons; puis leur nombre augmente; elles deviennent irrégulières dans leurs contours et subissent la dégénérescence caséuse. Ultérieurement, mais d'une manière assez inconstante, des lésions, d'abord punctiformes, puis de plus en plus volumineuses, apparaissent sur les reins, et l'infection progresse peu à peu par essaimage des bacilles dans le voisinage, d'où résulte la germination de nouveaux tubercules et l'extension des foyers par confluence des nodules.

\*  
\* \*

Lorsqu'ils sont inoculés au lapin et au cobaye, à dose modérée ou faible, les bacilles tuberculeux atteignent donc à bref délai les ganglions lymphatiques régionaux où ils restent cantonnés temporairement. Dans la suite, parfois même au début de l'infection, comme l'expérience le prouve, quelques germes entraînés par la lymphe pénètrent dans la circulation sanguine et sont véhiculés par le sang qui les dépose dans les organes profonds. Néanmoins, soit que la plupart d'entre eux dégèrent sur place, soit qu'ils se trouvent rapidement éliminés, soit que les réactions cellulaires et humorales inhibent leur prolifération, les foyers viscéraux, créés d'emblée par la bacillémie initiale, se réduisent chez le lapin à de très rares nodules pulmonaires qui se développent et se multiplient avec une extrême lenteur.

La première phase de la tuberculose ainsi produite correspond au *stade lymphatique* de Calmette. Elle est d'autant plus longue que la dose inoculée a été plus faible; nous verrons même que, dans certaines circonstances, elle peut se prolonger pendant plusieurs mois, comme dans l'infection latente si communément observée chez l'homme et chez les bovidés.

\*  
\* \*

Il ressort de tous ces faits que la tuberculose viscérale du cobaye et du lapin procède à la fois de la bacillémie initiale,



qui provoque la formation de lésions primaires isolées, et des décharges bacillaires, qui émanent de ces foyers. Les surinfections endogènes de voisinage, par la voie lymphatique, et les surinfections éloignées, par la voie sanguine, interviennent continuellement, et le processus tuberculeux ne cesse de s'aggraver, bien que les animaux soient devenus réfractaires ou du moins très résistants aux surinfections exogènes quelques semaines après l'inoculation. Nous reviendrons sur ce point en étudiant la dispersion bacillaire dans ses rapports avec l'immunité.

#### D. — DISPERSION DES BACILLES TUBERCULEUX MORTS DANS L'ORGANISME DU COBAYE.

Si elle suffit à indiquer que les bacilles inoculés sous la peau se déposent dans les viscères après un délai plus ou moins long, la virulence des tissus ne nous renseigne guère sur l'importance de cette imprégnation. C'est pourquoi nous avons essayé de préciser, par comparaison, comment les bacilles vivants et les bacilles morts, tels qu'on peut les déceler par l'examen microscopique des frottis, se répartissent dans l'organisme du cobaye.

EXPÉRIENCE IV. — Cette expérience a consisté à infecter deux lots de cobayes dans la région inguinale, les uns avec 10 milligrammes de bacilles vivants et virulents (souche humaine Ratti), les autres avec la même dose de ces bacilles stérilisés par un chauffage de trente minutes à 120°. Après des délais variables, nous avons sacrifié un cobaye de chaque lot et prélevé des fragments égaux des différents groupes ganglionnaires et des viscères, qui furent étalés par écrasement entre deux lames de verre et colorés par la méthode de Ziehl-Neelsen.

Les examens microscopiques de ces préparations ont donné les résultats rapportés dans le tableau VI.

Jusqu'au sixième jour de l'infection, l'examen microscopique des frottis indique que la dispersion des bacilles vivants et des bacilles morts est à peu près identique, tant au point de vue de leur localisation qu'au point de vue de leur nombre : une petite fraction des germes inoculés sous la peau pénètre dans la circulation sanguine qui les distribue dans les viscères ; d'autres, en grand nombre, sont retenus dans les gan-

gliers inguinaux et iliaques correspondants. Du huitième au vingt-septième jour, la répartition des bacilles morts présente

TABLEAU VI.

ORGANES examinés	BACILLES	NOMBRE DE JOURS APRÈS L'INOCULATION SOUS-CUTANÉE											
		2	4	6	8	10	12	14	16	24	27	32 et 65	89
Point d'inoculation.	Vivants .	∞	∞	∞	∞	++	++			∞		++	++
	Morts .	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞		++	++
Ganglions :													
Inguinal gauche.	Vivants .	+	+	+	+	+	+			++			
	Morts .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0
Inguinal droit.	Vivants .	0	0	+	+	+	+			++			
	Morts .	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
Iliaque gauche.	Vivants .	0	+	+	+	+				++			
	Morts .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
Iliaque droit.	Vivants .	0	0	+	0	0	+			++			
	Morts .	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0
Rétro- hépatique.	Vivants .		+			0	+			++			
	Morts .			+	+	+	0	0	0	+	+	0	0
Iléo-cæcal.	Vivants .					+	+			++			
	Morts .				+	+	0	0	+	0	0	0	0
Aillaire gauche.	Vivants .				0		+			++			
	Morts .				+	0	0	0	0	0	0	0	0
Aillaire droit.	Vivants .				0		+			++			
	Morts .				+	0	0	0	0	0	0	0	0
Cervical.	Vivants .					0	+			++			
	Morts .						0	0	0	0	0	0	0
Trachéo- bronchiques.	Vivants .	0	0	0	+	+	+			++			
	Morts .	0	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0	0
Rate.	Vivants .	+	0	0	+	+	+			++			
	Morts .	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
Foie.	Vivants .		+	0	+	+	+			++			
	Morts .	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0
Poumons.	Vivants .	0	0	0	0	0				++			
	Morts .	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0

Nota : ∞, bacilles très nombreux.

peu de changements; ensuite ils se raréfient de plus en plus, sauf au point de l'inoculation. Les bacilles vivants, au

contraire, deviennent décelables dans presque tous les organes et dans tous les ganglions dès le huitième ou le dixième jour, puis leur nombre ne cesse d'augmenter. Le dixième jour, la rate double ou triple de volume et des granulations s'y développent; le vingt-troisième jour, des lésions macroscopiques sont constituées dans la rate, le foie et les poumons.

On peut inférer de ces constatations (tableau VI) que, chez le cobaye, l'infection que provoque l'inoculation sous-cutanée de bacilles vivants ou de bacilles morts comporte une phase de dispersion lymphatique et sanguine de durée et d'importance quasi égales. Dans la suite, l'infection produite par les microbes morts se trouve bloquée, bien que les bacilles persistent pendant plusieurs semaines ou plusieurs mois au lieu même de l'inoculation et dans les ganglions régionaux. Par contre, les foyers primaires et secondaires, ganglionnaires et viscéraux, créés par les bacilles vivants, se montrent perméables aux germes qui y prolifèrent. Les nodules jeunes, en voie d'édification, essaient à leur tour; des lésions nouvelles se constituent dans les organes, les tubercules se multiplient dans la rate, le foie et les poumons, s'accroissent, deviennent confluent, et l'animal succombe en cinq à six semaines à une tuberculose granulique généralisée.

#### E. — DISPERSION DES BACILLES PARATUBERCULEUX DE LA FLÉOLE.

Le bacille paratuberculeux de la fléole, germe acido-résistant et saprophyte, offre cet avantage pour l'expérimentateur qu'il peut être cultivé avec la plus grande facilité sur les milieux artificiels où ses colonies caractéristiques se développent en quelques jours. Sans doute les propriétés pathogènes de ce microbe, que M<sup>me</sup> E. Alexa a récemment étudiées dans notre laboratoire, diffèrent essentiellement de celles du bacille de Koch en ce que les lésions qu'il provoque restent toujours localisées, qu'elles ne sont pas transmissibles par l'inoculation en série aux animaux et que, hormis le cas d'une intoxication massive, brutale, elles guérissent invariablement sans laisser d'autre trace qu'une cicatrice fibreuse. Néanmoins le bacille de la fléole détermine, dans le tissu conjonctif sous-cutané et dans les cavités séreuses où on l'inocule, des réactions locales ana-



logues à celles qu'engendre le bacille tuberculeux. D'autre part les réactions immunologiques de ces deux espèces microbiennes s'entrecroisent, dénotant ainsi que l'infection paratuberculeuse et l'infection tuberculeuse, bien que leurs conséquences soient très différentes, ne se distinguent que du point de vue quantitatif. On est donc fondé à comparer les modes de dissémination de ces germes dans l'organisme des animaux.

### A. — Cobayes.

EXPÉRIENCE V. — On inocule à une série de cobayes, dans le tissu sous-cutané de la face plantaire d'une patte postérieure, selon la technique précédemment indiquée, 0 c. c. 3 d'une suspension en eau physiologique contenant 3 milligrammes de bacilles de la fièvre (culture de huit jours sur pomme de terre glycinée). Puis après un délai de trente, soixante,

TABLEAU VII.

INTERVALLES entre l'inoculation et les prélèvements	RÉSULTATS DES ENSEMENCEMENTS (nombre de colonies rapporté à la masse totale du sang et des organes)							
	Sang	Ganglions inguinaux correspondants	Ganglions iliaques correspondants	Ganglions iliaques opposés	Ganglions inguinaux opposés	Bile	Rate	Poumons Ganglions trachéo-bronchiques
30 minutes . . . . .	0	1.200	120	0	0	0	0	0
60 minutes . . . . .	30	900	220	0	0	0	0	0
90 minutes . . . . .	48	600	0	6	0	0	30	48
5 heures . . . . .	0	8	0	0	0	0	0	0
16 heures . . . . .	0	2	40	0	0	0	0	0
24 heures . . . . .	0	12	40	0	0	0	4	0
52 heures . . . . .	0	0	240	40	0	0	0	0
3 jours . . . . .	0	8	8	0	0	0	20	40
8 jours . . . . .	0	0	600	0	0	0	0	0
15 jours . . . . .	0	0	0	0	0	0	0	40
25 jours . . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0

*Nota :* ∞, colonies innombrables.

quatre-vingt-dix minutes, cinq, seize, vingt-quatre, cinquante-deux heures, trois, huit, quinze et vingt-cinq jours, on saigne successivement ces animaux par ponction du cœur et on ensemence 6 à 8 cent. cubes de leur sang dans 6 à 8 tubes de milieu de Petroff au violet de gentiane. On les sacrifie immédiatement après la saignée et on prélève aseptiquement les ganglions ingui-

naux et iliaque correspondant à la patte inoculée, les ganglions inguinaux et iliaque opposés, la rate entière, le tiers d'un lobe pulmonaire et les ganglions trachéo-bronchiques, qui sont broyés séparément, additionnés de 3 ou 4 cent. cubes d'eau physiologique et ensemencés, ainsi que la bile, dans 3 tubes de milieu de Petroff. On porte les tubes non capuchonnés, en position horizontale, à l'étuve à 38° et on dénombre les colonies quatre jours, puis huit jours après. Cette double lecture est nécessaire, car le développement des bacilles de la fièvre est parfois très lent, en particulier dans les milieux ensemencés avec du sang. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau VII.

De même que les bacilles de Koch, les bacilles de la fièvre, lorsqu'on les inocule au cobaye dans des conditions identiques, atteignent en trente minutes, au maximum, les ganglions inguinaux correspondants. Ils se maintiennent en quantités importantes dans ces organes pendant cinq heures, puis ils en disparaissent après le troisième jour. Les ganglions iliaques sont contaminés dans le même délai et les bacilles y persistent en assez grande abondance jusqu'au huitième jour, après une brève pullulation secondaire le troisième jour.

Vers la soixantième minute, les bacilles font irruption dans la circulation sanguine. Mais la bacillémie se montre inconstante — du moins avec les moyens que nous avons employés — et de courte durée puisque tous les milieux, ensemencés avec du sang prélevé à partir de la quatre-vingt-dixième minute après l'inoculation, sont restés stériles. L'élimination par les voies biliaires n'a pas été constatée.

L'infection des ganglions trachéo-bronchiques est exceptionnelle.

#### B. — *Lapins.*

L'intensité avec laquelle les ganglions du lapin retiennent les germes inoculés sous la peau démontre, mieux encore que nos précédentes expériences sur la dissémination du bacille de Koch, que, contrairement à l'opinion de certains auteurs, le système lymphatique de ces deux espèces animales intervient d'une manière identique dans l'infection tuberculeuse.

EXPÉRIENCE VI. — Inoculation sous-cutanée de 25 milligrammes de bacilles de la fièvre dans le tissu conjonctif de la face plantaire d'une des pattes postérieures.

TABLEAU VIII.

INTERVALLES entre les inoculations et les prélèvements	RÉSULTATS DES ENSEMENCEMENTS (nombre de colonies rapporté à la masse totale du sang et des organes)					
	Sang	Ganglion poplité	Ganglions inguinaux	Rate	Reins	Poumons Ganglions trachéo-bronchiques
1 heure. . . . .	0	8	12	2	0	0
5 heures . . . . .	0	8	0	0	0	16
24 heures . . . . .	0	8	8	0	0	0
48 heures . . . . .	0	8	0	160	0	96
7 jours . . . . .	0	8	0	6	0	0
10 jours . . . . .	0	240	0	22	0	0
18 jours . . . . .	0	2	0	0	0	0
26 jours . . . . .	0	0	0	0	0	0
36 jours . . . . .	0	0	0	0	0	0

*Nota : ∞, colonies innombrables.*

Lorsqu'il pénètre du tissu conjonctif sous-cutané dans le sang, le bacille de la fièvre, à l'encontre du bacille tuberculeux, est donc rapidement capté, puis détruit par les cellules phagocytaires des ganglions lymphatiques, de la rate, des poumons et, comme nous le montrerons plus loin, du foie, organes qui contiennent les éléments les plus actifs du système réticulo-endothélial.

La dispersion précoce et temporaire des bacilles de la fièvre dans la circulation sanguine est comparable à celle des particules matérielles introduites sous la peau. Elle dépend, non pas des propriétés pathogènes de ces germes, qui ne dépassent pas celles des bacilles tuberculeux morts, mais de leur nombre et de leur structure ciro-graisseuse, à la faveur desquels certains d'entre eux, libres ou inclus dans les phagocytes, échappent aux réactions inflammatoires locales et au filtrage ganglionnaire.

En ce qui concerne la tuberculose, on peut inférer de ces constatations que la bacillémie consécutive à l'inoculation virulente sous-cutanée représente un épiphénomène de l'infection



et non un de ses aspects bactériologiques essentiels. Par contre, l'intensité de la dispersion bacillaire par la circulation sanguine et sa durée sont liées à la virulence des germes, c'est-à-dire à leur aptitude à se multiplier dans tous les tissus où la lymphe d'abord, puis le sang, les déposent.

## II. — Dispersion des bacilles tuberculeux et des bacilles paratuberculeux inoculés par la voie péritonéale.

### A. — DISPERSION DES BACILLES TUBERCULEUX.

Quand on inocule une faible dose de bacilles tuberculeux virulents dans la cavité péritonéale d'un cobaye, il se produit, en moins d'une demi-heure, d'après L. U. Gardner, une réaction locale, inflammatoire, plus ou moins vive, qui se manifeste, en particulier dans l'épiploon et dans la séreuse diaphragmatique, par la dilatation des vaisseaux, une légère diapédèse, la desquamation du mésothélium et un afflux de monocytes et de polynucléaires; en outre, des éosinophiles envahissent le tissu lymphoïde épiploïque. Au cours des quatre ou cinq heures qui suivent, on trouve des flocons de fibrine et des foyers hémorragiques à la surface de la séreuse; l'éosinophilie locale devient plus abondante et les polynucléaires s'accumulent en plus grand nombre; les monocytes se groupent et des cellules géantes vraies apparaissent. Cette réaction augmente d'intensité jusque vers la onzième heure, puis elle s'affaiblit si rapidement qu'elle ne se traduit plus, à la vingt-quatrième heure, que par une légère éosinophilie et par la présence de petits amas compacts de monocytes disséminés dans la paroi conjonctive des vaisseaux sanguins; le mésothélium se régénère. Dans la suite, les derniers vestiges de l'inflammation s'effacent et les monocytes se multiplient très activement: le septième jour, des nodules denses se dessinent et, le dixième jour, des tubercules typiques sont constitués.

Il nous a paru intéressant de rechercher dans quelle mesure ces réactions locales favorisent ou contrarient la migration lymphatique ou sanguine des bacilles de Koch introduits dans la cavité péritonéale et de comparer la dispersion de ces germes.

dans l'organisme du cobaye avec celle que l'on constate chez les animaux inoculés par la voie sous-cutanée.

EXPÉRIENCE VII. — Douze cobayes reçoivent, par la voie péritonéale, 0 milligr. 001 de bacilles bovins en suspension dans 1 cent. cube d'eau physiologique. Après des délais variés, on sacrifie ces animaux par ponction du cœur, on injecte immédiatement 8 à 10 cent. cubes de leur sang sous la peau de deux cobayes, puis on prélève aseptiquement des fragments de leurs poumons [bases] (1) et leurs ganglions trachéo-bronchiques qui sont broyés et inoculés séparément.

TABLEAU IX.

INTERVALLES entre les inoculations et les prélèvements	RÉSULTATS DES INOCULATIONS		
	Sang	Poumons	Ganglions trachéo- bronchiques
30 minutes . . . . .	0	0	0
1 heure . . . . .	0	0	+
2 heures . . . . .	+	+	0
4 heures . . . . .	+	0* (1)	+
24 heures . . . . .	0	0	0
48 heures . . . . .	+	+	+
5 jours . . . . .	+	+	+
10 jours . . . . .	0	+	+
15 jours . . . . .	+	+	+
20 jours . . . . .	+	+	+

(1) 0\* indique que les animaux sont morts moins de quatre semaines après l'inoculation.

Ce qui caractérise le développement de l'infection ainsi produite, c'est, comme l'indique le précédent tableau, la rapidité (moins de deux heures) avec laquelle les bacilles passent dans la circulation sanguine. A ce point de vue — et pour des quantités égales de germes inoculés — la tuberculose d'origine péritonéale est comparable à la tuberculose d'origine respiratoire que nous étudierons dans un prochain chapitre. Par contre, elle diffère de l'infection *per os* et de l'infection sous-cutanée, dont la première phase se traduit par l'arrêt momentané des germes d'abord sur place, puis dans les ganglions satellites, et, après un délai de plusieurs jours, par une faible bacillémie. Il semble donc que les réactions inflammatoires banales et les

(1) En sectionnant les côtes pour mettre les poumons à nu, on doit, naturellement, éviter toute perforation du diaphragme.

réactions monocytaires spécifiques, dont la séreuse et l'épiploon sont le siège, n'interviennent pas avec la même efficacité que les réactions du tissu conjonctif lâche ou sous-muqueux, dans la localisation provisoire de l'infection bacillaire.

En réalité, cette différence porte, non pas sur la nature des réactions cellulaires, mais sur leur étendue et sur leur intensité : en d'autres termes, elle est plus quantitative que qualitative.

Les bacilles introduits dans le péritoine sont, en effet, immédiatement répartis sur une large surface à la faveur des mouvements péristaltiques de l'intestin. En chacun des points où ils se déposent, ils provoquent la desquamation des cellules mésothéliales, comme ils déterminent la chute des cellules endothéliales dans la cavité alvéolaire lorsqu'ils sont inoculés par la voie trachéale. Après quelques instants, ils entrent ainsi directement en contact avec le riche réseau lymphatique et sanguin du chorion péritonéal, et ils en franchissent les parois. D'autre part, un grand nombre d'entre eux sont captés par l'épiploon où ils ne tardent pas à être phagocytés.

C'est uniquement à la grandeur de la surface d'absorption et à la multiplicité des foyers réactionnels qu'il convient, croyons-nous, d'attribuer la précocité et l'importance de la dispersion des bacilles inoculés dans la cavité péritonéale. La bacillémie qui en résulte à bref délai peut être rapprochée de la bacillémie produite par des microbes mobiles, tels que le bacille typhique et le vibron cholérique, que Buxton et Sana-relli ont mis en évidence cinq minutes après l'inoculation par la même voie ; elle s'en distingue, toutefois, par sa progression plus lente et par sa persistance pendant toute la durée de l'infection.

Il est vraisemblable que l'absorption du bacille de Koch s'effectue, dans cette circonstance, par l'intermédiaire des lymphatiques péritonéaux et épiploïques ; mais, comme G. H. Wells et Johnstone l'ont fait remarquer à propos d'autres germes, puisque les capillaires lymphatiques sont dépourvus de stomates s'ouvrant dans la séreuse, on est également fondé à admettre que les bacilles inoculés dans la cavité péritonéale pénètrent directement, avec la même facilité, dans les capillaires sanguins.



## B. — DISPERSION DES BACILLES DE LA FLÉOLE.

EXPÉRIENCE VIII. — On inocule à 20 cobayes, dans la cavité péritonéale, une suspension, dans 1 cent. cube d'eau physiologique, de 3 milligrammes de bacilles de la fléole, provenant d'une culture de huit jours sur pomme de terre glycinée. Après des délais variés, on sacrifie ces animaux par ponction du cœur et onensemence 3 à 5 cent. cubes de leur sang sur 6 tubes de milieu de Petroff. Ensuite, on prélève aseptiquement un fragment de poumon et de rein (préalablement cautérisé), qui sont broyés séparément et ensemenés sur des tubes de milieu de Petroff. Ces ensemenements ont donné dix jours plus tard les résultats suivants (Tableau X :

TABLEAU X.

INTERVALLES entre les inoculations et les ensemenements	NOMBRE DE COLONIES RAPPORTÉ A LA MASSE TOTALE du sang et des organes prélevés			
	Sang	Poumons	Ganglions trachéo- bronchiques	Reins
15 minutes . . . . .	0	0	0	—
30 minutes . . . . .	0	0	0	—
50 minutes . . . . .	176	80	96	—
75 minutes . . . . .	104	0	8	—
8 heures . . . . .	80	—	—	—
24 heures . . . . .	120	60	∞	—
2 jours . . . . .	80	220	12	—
3 jours . . . . .	24	—	—	—
4 jours . . . . .	48	60	0	—
5 jours . . . . .	160	0	0	—
6 jours . . . . .	64	0	0	—
7 jours . . . . .	16	400	12	—
8 jours . . . . .	0	200	0	—
10 jours . . . . .	0	180	12	—
12 jours . . . . .	0	0	—	—
13 jours . . . . .	0	20	0	170
14 jours . . . . .	0	0	0	90
20 jours . . . . .	0	0	0	0
26 jours . . . . .	0	0	0	0

Les résultats de cette expérience corroborent les précédents, en montrant que le bacille paratuberculeux de la fléole passe également plus vite dans la circulation sanguine, quand il est inoculé par la voie péritonéale (cinquante minutes) que lorsqu'il est inoculé par la voie sous-cutanée (quatre-vingt-dix minutes). En outre, la phase bacillémique est de plus longue durée (sept jours au lieu de quelques heures). Il semble que cette persistance de la bacillémie puisse être

attribuée au mode de dispersion des germes sur toute la surface du péritoine et de l'épiploon et à la multiplicité des réactions inflammatoires qu'ils provoquent en se multipliant dans la séreuse desquamée.

A partir du huitième jour, le sang devient stérile et les bacilles disparaissent progressivement des organes où ils s'étaient fixés : le dixième jour dans les ganglions trachéo-bronchiques, le treizième jour dans les poumons et le quatorzième jour dans les reins. Parallèlement, les lésions péritonéales et épiploïques régressent et, après quelques semaines, aucune trace de l'infection ne subsiste.

### III. — Dispersion des bacilles tuberculeux et des bacilles paratuberculeux inoculés par la voie trachéale.

#### A. — DISPERSION DES BACILLES TUBERCULEUX.

Les partisans de l'origine respiratoire de la tuberculose pulmonaire ont cherché, avant tout, à mettre en évidence la facilité avec laquelle les bacilles, lorsqu'ils sont inoculés directement dans la trachée ou inhalés en suspension dans de fines gouttelettes liquides ou sous la forme de particules poussiéreuses, microscopiques, pénètrent dans les poumons, et comment ils créent, au niveau même de cette « porte d'entrée », des foyers comparables au « chancre cutané » que provoque l'inoculation virulente, dermique ou hypodermique. On supposait donc, et grand nombre de phtisiologues admettent encore, qu'après s'être multipliés dans ces foyers pulmonaires primitifs, les germes font irruption dans les lymphatiques régionaux et pénètrent dans les ganglions trachéo-bronchiques. Dès le début de l'infection tuberculeuse, il se formerait, suivant l'expression de Ranke, un complexe primaire, susceptible de se stabiliser ultérieurement, de régresser ou de s'étendre, selon les doses et la virulence des bacilles ou suivant les oscillations de l'allergie qui résulte de cette localisation bacillaire. La tuberculose pulmonaire apparaît ainsi comme une maladie primitivement locale, limitée dans sa première phase au couple lésionnel pulmo-ganglionnaire.

L. Cobbet (1910), étudiant au microscope la répartition des bacilles et le développement des lésions tuberculeuses chez le

TABLEAU XI (d'après Cobbet).

DÉLAIS DES PRÉLÈVEMENTS des organes après l'infection	RÉSULTATS DES EXAMENS MICROSCOPIQUES					
	Poumons	Ganglions trachéo bronchiques	Ganglions sous-maxillaires	Ganglions mésentériques	Rate	Foie
3 h. 1/2. . . . .	+	0	0	0	0	0
6 heures . . . . .	+	0	+	0	0	0
5 jours . . . . .	+	+	0	0	0	0
10 jours . . . . .	+	+	0	0	0	0
14 jours . . . . .	+	+	0	+	+	0
28 jours . . . . .	+	+		0	+	0

cobaye infecté par inhalation avait constaté, en effet (tableau XI), que la contamination des ganglions trachéo-bronchiques ne se produit qu'après un délai de plusieurs jours et qu'elle précède la bacillémie de plus d'une semaine.

Depuis que ses recherches avec Guérin lui avaient montré que les bacilles tuberculeux, administrés *per os*, sont transportés

TABLEAU XII (d'après Calmette et Grysez).

DÉLAIS des prélèvements après l'inoculation infectante	RÉSULTATS DES INOCULATIONS DES ORGANES PRÉLEVÉS				
	Ganglions mastoldiens pharyngés et cervicaux	Ganglions trachéo- bronchiques	Poumons	Rate	Foie
2 jours . . . . .	0	0	0	0	0
4 jours . . . . .	0	0	+	0	0
6 jours . . . . .	+	0	+	+	0
8 jours . . . . .	+	0	0	0	0
12 jours . . . . .	+	0	0	+	0
15 jours . . . . .	+	0	+	0	0
18 jours . . . . .	+	0	0	0	0

à bref délai dans les poumons et dans les ganglions trachéo-bronchiques, Calmette a toujours contesté l'exactitude de cette



opinion. Dans une expérience préliminaire, il fournit, en 1913, avec Grysez, « la preuve décisive de la rapidité avec laquelle les bacilles, simplement déposés à la surface d'une muqueuse saine, pénètrent et se répandent dans l'organisme avant qu'aucune lésion locale ou ganglionnaire de voisinage se soit constituée ». Voici (tableau XII) ce qu'il a observé en essayant de déterminer au bout de combien de jours après une instillation virulente sur la conjonctive la présence de bacilles, dans les organes du cobaye, peut être décelée par l'inoculation.

Dans la suite, Calmette et Grysez recherchèrent si, au cours de l'infection expérimentale du cobaye par les voies respiratoires, les bacilles inhalés à faible dose restent à la surface des alvéoles où ils seraient susceptibles de produire des lésions tuberculeuses primitives, ou bien s'ils pénètrent dans la lymphe et dans la circulation sanguine avant que s'organisent les lésions pulmonaires (tableau XIII).

TABLEAU XIII (d'après Calmette et Grysez).

DÉLAIS des prélèvements après l'inhalation infectante	RÉSULTATS DES INOCULATIONS DES ORGANES PRÉLEVÉS				
	Ganglions trachéo- bronchiques	Ganglions sous- maxillaires	Ganglions mésentériques	Rate	Sang
1 jour . . . . .	0	0	0	0	0
2 jours . . . . .	0	0	0	0	0
4 jours . . . . .	+	+	0	0	0
8 jours . . . . .	+	+	+	+	+
12 jours . . . . .	+	+	+	+	0
16 jours . . . . .	+	+	0	+	0
20 jours . . . . .	+	+	+	+	+

Les lésions pulmonaires ne devenant visibles qu'à partir du huitième ou du dixième jour, il apparaissait ainsi, de la façon la plus évidente, que l'infection consécutive à l'inhalation de bacilles virulents, loin de se localiser au couple pulmo-ganglionnaire, débute par une imprégnation générale de l'organisme.

Le problème étant ainsi posé, il ne restait plus qu'à préciser comment s'effectue la dispersion des bacilles introduits dans les poumons, lorsqu'on fait varier la quantité de germes ino-

culés, pour se rapprocher, autant que possible, des conditions naturelles de l'infection tuberculeuse. C'est ce que nous avons cherché à réaliser par les expériences dont nous apportons ici les résultats.

EXPÉRIENCE IX. — 14 cobayes reçoivent par piqûre, au moyen d'une fine aiguille à intradermo-tuberculation, vers le tiers supérieur de la trachée mise à nu, 0 c. c. 2 d'une suspension contenant 0 milligr. 1 de bacilles virulents (1). Puis, après des délais variés, on sacrifie ces animaux par saignée et on injecte leur sang (6 à 10 cent. cubes) à 2 cobayes neufs par la voie sous-cutanée. Après flambage de la peau, on prélève aseptiquement les ganglions trachéo-bronchiques, en évitant de blesser la trachée à laquelle ils adhèrent plus ou moins, des fragments de poumon (base de chaque lobe représentant environ le cinquième de l'organe) et la rate qui sont broyés séparément, mis en suspension dans 6 à 8 cent. cubes d'eau physiologique et inoculés à des cobayes (2 cobayes pour chaque suspension).

Le tableau suivant (tableau XIV) résume les constatations faites à l'autopsie de ces animaux.

TABLEAU XIV.

INTERVALLES entre l'inoculation et les prélèvements	RÉSULTATS DES INOCCLATIONS			
	Sang	Poumons	Ganglions trachéo- bronchiques	Rate
30 minutes . . . . .	+	+	+	0
90 minutes . . . . .	0	+	+	0
7 heures . . . . .	+	+	+	+
24 heures . . . . .	0	+	+	+
3 jours . . . . .	0	+	+	+
4 jours . . . . .	0	+	+	+
8 jours . . . . .	+	+	+	+
15 jours . . . . .	+	+(1)	+(1)	+

(1) Les ganglions trachéo-bronchiques et les poumons du cobaye sacrifié le quinzième jour présentaient des lésions tuberculeuses macroscopiques.

Lorsqu'ils sont inoculés par la voie trachéale à la dose massive de 0 milligr. 1, les bacilles tuberculeux pénètrent donc simultanément, en moins de trente minutes, dans la lymphe pulmonaire et dans le sang. Mais la bacillémie initiale est de

(1) Afin de faciliter la pénétration du liquide dans les poumons, les cobayes sont fixés en position oblique pendant l'inoculation, puis ils sont tenus un instant en position verticale.

faible importance, puisque la rate, avant la 7<sup>e</sup> heure, ne contient pas de bacilles décelables. Par contre les ganglions trachéo-bronchiques et, naturellement, les poumons, prélevés depuis la trentième minute après l'inoculation, provoquent régulièrement une infection à marche rapide qui débute presque toujours par un ulcère cutané. De la septième heure au huitième jour, le sang cesse d'être infectant; puis la bacillémie réapparaît.

EXPÉRIENCE X. — Les résultats de l'inoculation intratrachéale d'une dose faible, 0 milligr. 0001, diffèrent sensiblement des précédents, quant à la rapidité du passage des germes dans les voies lymphatiques et dans la circulation sanguine (tableau XV).

TABLEAU XV.

INTERVALLES entre les inoculations et les prélèvements	RÉSULTATS DES INOCULATIONS			
	Sang	Ganglions trachéo- bronchiques	Poumons	Rate
30 minutes . . . . .	0	0	+	0
60 minutes . . . . .	0	0	+	0
7 heures . . . . .	0	0	+	0
24 heures . . . . .	0	+	+	+
48 heures . . . . .	0	+	+	0
3 jours . . . . .	0	+	+	0
4 jours . . . . .	0	+	+	0
8 jours . . . . .	0	+	+	+
15 jours . . . . .	+	+	+	+

Dans cette circonstance, où le nombre de bacilles inoculés est d'environ 4.000, d'après la numération de Calmette, leur dispersion initiale paraît s'effectuer uniquement par les voies lymphatiques, et l'infection des ganglions trachéo-bronchiques ne se manifeste qu'entre la septième et la vingt-quatrième heure après l'infection pulmonaire. La bacillémie, décelable vers le quinzième jour, au moment où les lésions pulmonaires deviennent visibles à l'œil nu, débute en réalité plus tôt par des décharges minimales et intermittentes, qui ont pour effet de contaminer certains organes éloignés, tels que la rate.

En conformité avec la règle qui ressort des expériences d'inoculation sous-cutanée, la précocité et l'abondance de la



dispersion bacillaire par la voie sanguine dépendent donc très étroitement de l'importance de la primo-infection, quelles que soient son origine et ses modalités.

#### B. — DISPERSION DES BACILLES PARATUBERCULEUX DE LA FLÉOLE.

Si elles donnent la preuve que les bacilles inoculés par la voie trachéale pénétrèrent jusque dans les alvéoles et traversent aisément leurs parois pour se répandre dans l'organisme, les expériences qui précèdent ne permettent pas cependant de déterminer d'une part le nombre de germes qui restent fixés dans les poumons et s'y multiplient, d'autre part le nombre de ceux qui passent directement dans la circulation lymphatique, voire dans la circulation sanguine. En d'autres termes, elles ne nous renseignent pas exactement sur la valeur relative de l'infection locale, de l'infection ganglionnaire et de l'infection générale dans la phase initiale de la tuberculose.

La culture des organes et du sang contaminés expose à de tels aléas qu'on ne peut guère l'appliquer à résoudre ce problème avant qu'une technique sûre permette d'obtenir le développement, sur des milieux spéciaux, de la totalité des germes que renferment les produitsensemencés. On ne saurait non plus tirer aucune indication certaine de la marche et de la gravité de l'infection que provoquent ces produits lorsqu'on les inocule à des cobayes. Par contre, la méthode comparative que nous avons employée jusqu'ici permet de tourner la difficulté de cette recherche, et, bien que les « qualités agressives » du bacille de la fléole, c'est-à-dire sa virulence, soient médiocres, nous pensons néanmoins que l'étude de sa dispersion dans l'organisme, après qu'il a été introduit dans la trachée, permet de mesurer la perméabilité du parenchyme pulmonaire aux corps microbiens.

EXPÉRIENCE XI. — 15 cobayes reçoivent, par piqûre de la trachée, 20 milligrammes de bacilles de la fléole en suspension dans 0 c. c. 2 d'eau physiologique. Après les délais variés, on sacrifie successivement ces animaux et on ensemeence séparément leur sang, leurs ganglions trachéo-bronchiques, la rate entière, des fragments de poumons (bases) et du foie. Voici les résultats de ces ensemcements relevés au cinquième jour et au huitième jour de la culture (tableau XVI).

TABLEAU XVI.

INTERVALLES entre l'inoculation et lesensemencements	NOMBRE DE COLONIES rapporté à la masse totale du sang et des organes prélevés					
	Poumons	Ganglions trachéo- bronchiques	Sang	Bile	Foie	Rate
15 minutes. . . . .	8	4		0		
30 minutes. . . . .	8	16		0	0	0
60 minutes. . . . .	8	8	180	0	72	4
3 heures . . . . .	8	100	0	0	0	0
6 heures . . . . .	8	600	360	0	24	4
24 heures . . . . .	8	∞	0	0	24	4
48 heures . . . . .	8	∞	0	0	120	58
4 jours . . . . .	8	160	0	0	360	4
8 jours . . . . .	8	48	0	0	290	8
15 jours . . . . .	24	40	0	0	0	0
22 jours . . . . .	960	0	0	0	0	0
39 jours . . . . .	0	0	0	0	0	0

EXPÉRIENCE XII. — *Inoculation intratrachéale de 1 milligramme de bacilles de la fièvre.*

TABLEAU XVII.

INTERVALLES entre l'inoculation et lesensemencements	NOMBRE DE COLONIES RAPPORTÉ A LA MASSE TOTALE du sang et des organes prélevés	
	Poumons	Ganglions trachéo-bronchiques
30 minutes. . . . .	∞	0
60 minutes. . . . .	∞	16
2 heures . . . . .	∞	4
7 heures . . . . .	∞	120
24 heures . . . . .	∞	320

EXPÉRIENCE XIII. — *Inoculation intratrachéale de 0 milligr. 01 de bacilles de la fièvre.*

TABLEAU XVIII.

INTERVALLES entre l'inoculation et lesensemencements	NOMBRE DE COLONIES RAPPORTÉ A LA MASSE TOTALE du sang et des organes prélevés.	
	Poumons	Ganglions trachéo-bronchiques
30 minutes. . . . .	∞	0
60 minutes. . . . .	960	0
2 heures . . . . .	720	0
7 heures . . . . .	∞	8
24 heures . . . . .	∞	20
3 jours . . . . .	240	20
8 jours . . . . .	0	28

Les bacilles de la fléole, lorsqu'ils sont inoculés au cobaye à dose massive, par la voie trachéale, peuvent donc être décelés quinze minutes plus tard dans le sang et dans les ganglions trachéo-bronchiques. La bacillémie reste appréciable jusqu'à la sixième heure, puis elle cesse brusquement. Par contre, quand ils sont inoculés à la dose relativement faible de 0 milligr. 01, les bacilles n'atteignent les ganglions régionaux en quantités appréciables qu'après un délai de plus de deux heures.

L'infection des ganglions trachéo-bronchiques augmente peu à peu à partir de la troisième heure, ou entre le premier et le troisième jour, selon les doses administrées. Elle atteint son maximum en quarante-huit à soixante-douze heures, puis elle diminue très rapidement. Le vingt-deuxième jour après l'infection, tous lesensemencements restent négatifs.

Des phénomènes de même ordre se produisent dans les poumons : l'ensemencement de ces organes, qui fournit d'abord des colonies innombrables, ne donne plus, à partir du quinzième jour, qu'une maigre végétation ; néanmoins quelques bacilles y conservent leur vitalité jusqu'au trente-neuvième jour. Quant à ceux que le sang disperse dans les viscères, un très petit nombre se fixent dans la rate et dans le foie, d'où ils disparaissent à bref délai sans s'y être multipliés. L'élimination par les voies biliaires n'a pas été observée.

Il ressort de ces faits que les bacilles de la fléole inoculés dans la trachée se comportent comme ceux que l'on inocule sous la peau : les uns sont retenus sur place, les autres passent immédiatement dans la circulation lymphatique, d'autres enfin, dont le nombre croît proportionnellement aux doses administrées, pénètrent dans la circulation sanguine. Ceux qui se fixent dans les viscères éloignés, à la faveur de la bacillémie, y sont détruits en moins de quinze jours.

Cette dispersion des bacilles de la fléole, consécutive à l'infection trachéo-pulmonaire, ne paraît pas différer non plus de la dispersion initiale des bacilles tuberculeux virulents. Mais alors que les bacilles acido-résistants saprophytes se déposent dans les ganglions régionaux et éventuellement dans les organes éloignés comme des particules inertes et comme des bacilles morts, les bacilles virulents, au contraire, proli-



fièrent activement dans tous les points où ils se fixent. Pendant toute la période qui précède l'établissement de l'immunité, les foyers ainsi formés peuvent devenir la source de nouvelles émissions bacillaires, de sorte que la bacillémie tuberculeuse, au lieu de se restreindre à une courte décharge dans la circulation sanguine, comme la bacillémie paratuberculeuse, s'effectue par vagues successives qui augmentent incessamment d'amplitude et d'intensité.

#### IV. — Absorption et dispersion des bacilles tuberculeux et des bacilles paratuberculeux administrés *per os*.

La possibilité d'une contamination par ingestion de produits virulents apparaît si évidente, qu'elle est admise presque sans contestations dans l'étiologie de la tuberculose naturelle de l'homme et des animaux. Mais l'accord des phthisiologues cesse lorsqu'il s'agit de préciser la fréquence, l'importance et le mécanisme de ce mode de contamination.

Dans un groupe se rangent ceux qui attribuent à l'inhalation de fines gouttelettes ou de poussières bacillifères un rôle prédominant dans le développement de la tuberculose pulmonaire. L'infection par les voies digestives ne se produirait que dans quelques circonstances exceptionnelles et elle se traduirait toujours par des lésions locales, telles que la formation de tubercules dans la muqueuse, l'hypertrophie et la caséification des ganglions correspondants. Elle se propagerait ensuite aux viscères abdominaux et thoraciques par l'intermédiaire des vaisseaux lymphatiques et sanguins.

Pour un grand nombre d'autres auteurs, parmi lesquels Chauveau, Behring, Calmette, Vallée, l'infection *per os* s'effectue, au contraire, avec la plus grande facilité : les bacilles traversent la muqueuse intestinale saine, et leur passage n'est pas suivi nécessairement d'une lésion locale.

Cette absorption du bacille de Koch par les voies digestives a été démontrée pour la première fois par Nicolas et Descos qui, administrant à des chiens des cultures virulentes mélangées avec de la soupe grasse, puis les sacrifiant trois heures plus tard et inoculant à des cobayes une petite quantité de

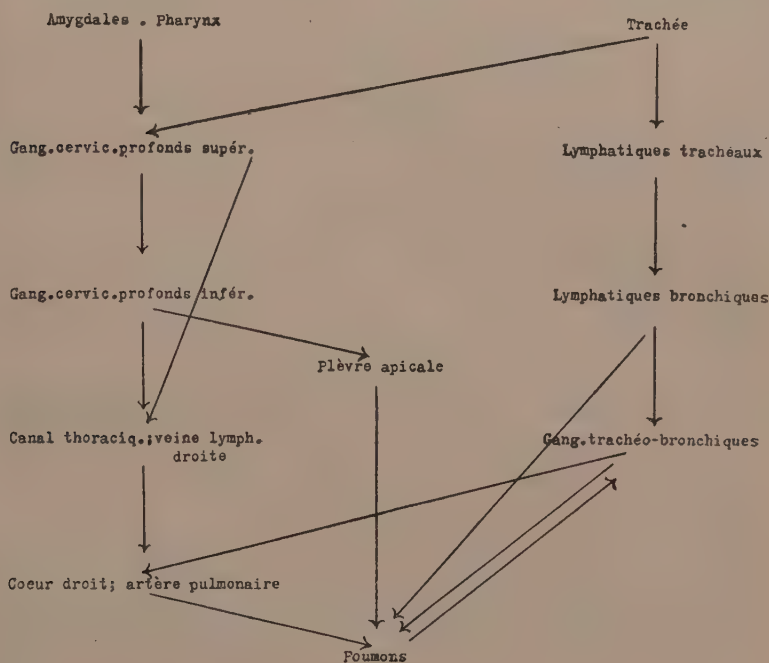
chyle prélevé dans la citerne de Pecquet, ont constaté que ces animaux devenaient tuberculeux.

Calmette et Guérin ont réussi à maintes reprises à infecter des cobayes, des chèvres et des bovidés en leur faisant absorber, avec leurs aliments, des bacilles finement émulsionnés. Chez les jeunes animaux, un seul repas infectant suffit pour produire des lésions qui restent assez longtemps localisées aux ganglions mésentériques. Par contre, chez les animaux adultes, infectés dans les mêmes conditions, les altérations tuberculeuses apparaissent d'emblée dans les poumons, sans que les germes laissent la moindre trace de leur passage sur la muqueuse digestive et dans les ganglions mésentériques. Cette localisation initiale des bacilles dans les ganglions mésentériques des jeunes sujets tiendrait à ce que, comme l'avait constaté Weigert, ces organes jouent, à l'égard de la lymphe, dans les premiers mois de la vie, le rôle d'un filtre presque parfait. Chez les animaux adultes, les ganglions sont beaucoup plus perméables, par suite de leur texture plus lâche, de sorte qu'ils n'arrêtent plus les bacilles englobés dans les leucocytes et que ceux-ci sont charriés par la lymphe et par le sang veineux jusque dans le ventricule droit et, de là, propulsés dans la circulation pulmonaire.

Récemment, la perméabilité de la muqueuse intestinale saine au bacille de Koch a été mise en évidence par K. Satake au moyen de l'injection au cobaye d'une suspension virulente dans l'estomac, à travers la paroi abdominale. Dans les semaines qui suivent cette inoculation, on ne trouve aucune lésion de la paroi stomacale, du péritoine et de la peau au niveau de la piqure. Par contre, la rate et les ganglions mésentériques s'hypertrophient, puis présentent des altérations tuberculeuses typiques. Du fait que l'infection des ganglions duodénaux est plus rapide et plus marquée, K. Satake conclut que le segment correspondant de l'intestin grêle constitue la porte d'entrée la plus favorable pour le bacille tuberculeux. Lopo de Carvalho et Ferreira de Mira admettent, au contraire, que les bacilles introduits directement dans l'intestin pénètrent d'emblée dans la circulation sanguine.

Lorsqu'elles sont contaminées par des bacilles ingérés avec les aliments, les amygdales peuvent être le point de départ

d'une tuberculose ganglionnaire cervicale susceptible de s'étendre ultérieurement aux viscères. D'après T. Beckwith et R. Millzner, la lymphe des amygdales et du pharynx peut emprunter plusieurs voies après qu'elle a atteint les ganglions cervicaux supérieurs profonds, comme l'indique le schéma suivant :



Une partie de la lymphe passe dans les ganglions cervicaux inférieurs profonds, puis dans le canal thoracique et dans la veine lymphatique droite; une autre partie, beaucoup plus importante, se déverse directement dans les troncs jugulaires, puis dans la veine lymphatique et le canal thoracique. Les germes que la lymphe véhicule pénètrent ainsi dans le cœur droit, et le sang de l'artère pulmonaire les entraîne dans les poumons. Une autre possibilité d'une contamination pleuro-pulmonaire tient à l'existence des vaisseaux lymphatiques qui relient les ganglions cervicaux inférieurs profonds à la plèvre apicale. Par contre, les ganglions trachéo-bronchiques n'auraient aucune connexion directe avec les ganglions cervicaux.



Les voies digestives supérieures se prêteraient si aisément à l'absorption du bacille de Koch qu'il suffirait, d'après J. Koch et W. Baumgarten, d'introduire une petite quantité de ce germe dans la bouche d'un cobaye ou d'un lapin pour obtenir une tuberculose typique des ganglions sous-glossiens et cervicaux, suivie de lésions pulmonaires : 8 à 10.000 germes seulement, déposés sur la langue, ne détermineraient pas toujours l'infection chez le cobaye, mais 2 millions la produiraient sans exception. Dans quelques cas même, lorsqu'on emploie de très petites doses, les bacilles absorbés au niveau de la muqueuse bucco-pharyngée pourraient provoquer une tuberculose pulmonaire pure sans laisser de traces dans les ganglions qu'ils doivent traverser avant d'atteindre les poumons.

Bruno Lange a également réussi à infecter des cobayes en leur administrant *per os* des quantités minimales de bacilles très virulents; mais il reconnaît que, dans ces conditions, la tuberculose ne survient que chez une partie seulement des animaux inoculés. Comme les auteurs précédents, il a constaté que l'infection ainsi réalisée ne s'accompagne pas de chancre d'inoculation et que, parfois, l'adénite satellite fait également défaut.

Malgré toutes ces démonstrations expérimentales auxquelles s'ajoutent des preuves cliniques et anatomo-pathologiques évidentes, un grand nombre de phthisiologues restent plus ou moins réfractaires à admettre la fréquence de la contamination par les voies digestives. Pour expliquer le développement de la tuberculose chez les animaux auxquels on fait ingérer des produits virulents, certains auteurs, en effet, comme A. S. Griffith, supposent que les bacilles trouvent leur chemin dans la muqueuse intestinale au niveau de petites lésions superficielles qui dénudent sa surface; d'autres pensent que quelques germes sont projetés dans la trachée au moment de la déglutition du bol infectant; pour d'autres, enfin, des parcelles alimentaires virulentes seraient régurgitées et entraînées ensuite dans les voies respiratoires à la faveur d'une profonde inspiration. C'est ce que L. Cobbet croyait avoir démontré en étudiant comme il suit (tableau XIX) la répartition, dans l'organisme du cobaye et du lapin, des bacilles administrés *per os*.

Enfin, se fondant sur ses recherches sur la fièvre typhoïde,

le choléra et le charbon bactérien, Sanarelli a récemment soutenu cette thèse que l'intestin, loin de se prêter à l'absorption des microbes, se comporte uniquement comme un organe d'élimination.

Avant d'aborder le problème de l'infection tuberculeuse *per os* dont l'extrême complication ressort de toutes ces hypothèses contradictoires, il nous a paru rationnel d'étudier la perméabi-

TABLEAU XIX (d'après Cobbet).

INTERVALLES entre l'infection et les prélèvements	RÉSULTATS DES INOCULATIONS des organes prélevés					
	Poumons	Ganglions trachéo-bronchiques	Rate	Foie	Ganglions mésentériques	Ganglions cervicaux et sous-maxillaires
17 heures . . . . .	0	0	+	0	0	0
24 heures . . . . .	+	0			0	
44 heures . . . . .	+	0		0	0	+

lité de la muqueuse digestive normale aux bacilles acido-résistants saprophytes, afin de pouvoir étendre nos conclusions *a fortiori* aux bacilles pathogènes. C'est pourquoi, contrairement à l'ordre suivi jusqu'ici, nous exposerons en premier lieu, dans ce chapitre, les résultats de nos expériences sur l'absorption et la dissémination du bacille de la fléole dans l'organisme du cobaye.

#### A. — ABSORPTION ET DISPERSION DES BACILLES DE LA FLÉOLE ADMINISTRÉS « PER OS ».

EXPÉRIENCE XIV. — On fait ingérer par des cobayes de 350 à 400 grammes, à jeun, depuis vingt-quatre heures, 30 centigrammes de bacilles de la fléole (1), essorés, mis en suspension dans 1 cent. cube d'eau physiologique et déposés sur un peu de mie de pain. Puis, après des intervalles variés, on

(1) Mélanges en parties égales de cultures de huit à dix jours sur pomme de terre et sur bouillon glyciné.

saigne ces animaux à blanc par ponction du cœur et on ensemence la totalité du sang extrait (12 à 15 cent. cubes) sur 8 ou 10 tubes de milieu de

TABLEAU XX.

PRODUITS ensemencés	INTERVALLES ENTRE L'INFECTION ET LES ENSEMENCEMENTS (Nombre de colonies rapporté à la masse totale du sang et de la bile)									
	45 minutes	1 heure	2 heures	3 heures	4 heures	5 heures	7 heures	10 heures	24 heures	48 heures
Sang . . . . .	0	0	0	Nombreux.	Nombreux.	0	0	0	0	3
Bile . . . . .	1	0	Nombreux.	Nombreux.	Nombreux.	0	0	0	0	0

Petroff et de pomme de terre glycinée. Immédiatement après la mort, on ponctionne aseptiquement la vésicule biliaire et on ensemence la bile sur 2 ou 3 tubes des mêmes milieux.

On constate la présence des bacilles ingérés (coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen), dans l'intestin grêle et dans le gros intestin où ils sont très abondants, quarante-cinq à soixante minutes après l'ingestion; on en trouve ensuite dans le rectum. A partir de la vingtième heure, ils sont beaucoup plus nombreux dans le rectum que dans les segments antérieurs de l'intestin. Après la quarante-huitième heure, ils paraissent éliminés en totalité du tube digestif.

La bacillémie, qui débute entre la deuxième et la troisième heure, démontre que les germes traversent aisément la muqueuse digestive, quoique en assez petit nombre par rapport à la dose ingérée, et pendant un temps très court. Le fait que les bacilles passent dans la bile avant qu'ils puissent être mis en évidence dans le sang du cœur est favorable à l'hypothèse de Lopo de Carvalho et Ferreira de Mira, suivant laquelle les bacilles sont absorbés par la voie veineuse et directement entraînés dans le foie par le sang de la veine-porte.

Ni la bile que l'on fait ingérer à la dose de 1 cent. cube ou de 1 c. c. 5, une ou deux heures avant le repas infectant, ni le jaune d'œuf (un jaune pour 3 ou 4 cobayes) ne paraissent augmenter la perméabilité de la muqueuse digestive. En revanche les cultures du sang et de la bile se sont montrées plus abondantes et plus fréquemment positives lorsque les animaux



avaient absorbé leur repas ordinaire (croûtes de pain, betterave) aussitôt après l'infection.

P. Nélis, P. Nélis et van Bœckel ont vérifié nos observations et les résultats de leurs expériences concordent exactement avec les nôtres. En outre P. Nélis a démontré que la muqueuse digestive du tout jeune cobaye est plus perméable aux bacilles que la muqueuse digestive du cobaye adulte. J. Pampana, au laboratoire de Sanarelli, a également obtenu des résultats identiques. Toutefois, ayant constaté que les bacilles de la fléole peuvent être retrouvés dans les poumons, dans le foie, dans la rate et dans les reins moins de dix minutes après qu'ils ont été ingérés, alors que ces organes, sauf les reins dans quelques cas, restent indemnes quand les animaux ont été trachéotomisés avant l'infection, ce dernier auteur conclut que les germes introduits par la bouche pénètrent dans la circulation plutôt au niveau de l'arbre respiratoire qu'au niveau de la muqueuse intestinale. La perméabilité des voies digestives se trouvant ainsi remise en question, nous avons répété et développé notre expérience initiale afin de déterminer d'une façon plus précise le siège et le mécanisme de l'absorption microbienne.

EXPÉRIENCE XV. — Nous avons administré à des cobayes adultes, de 350 à 400 grammes, à jeun depuis vingt-quatre heures, 30 centigrammes de bacilles de la fléole essorés, mis en suspension dans 1 cent. cube d'eau glucosée à 40 p. 100 et déposés sur de la mie de pain. Puis ces animaux ont été sacrifiés à des intervalles variés par ponction cardiaque et leur sang (6 à 8 cent. cubes), leurs ganglions mésentériques, trachéo-bronchiques et cervicaux, leur rate en totalité, un huitième environ de leur foie et la moitié du lobe pulmonaire postérieur ont étéensemencés séparément, après broyage, sur des tubes de milieu de Petroff.

Les résultats de ces ensemencements sont résumés dans le tableau XXI.

Il ressort de ce tableau que, au cours de la première heure après le repas infectant, même chez le cobaye adulte, des bacilles pénètrent dans les ganglions lymphatiques annexes des organes digestifs et dans la circulation sanguine, qui les dissémine dans les viscères. La bacillémie augmente jusqu'à la cinquième heure, puis elle diminue à un tel point qu'on parvient très difficilement à la mettre de nouveau en évidence, vers la quarante-huitième heure, par les méthodes employées.

La rapidité avec laquelle se produit l'infection ganglionnaire, cervicale et mésentérique, ne laisserait aucun doute sur la perméabilité de la région tonsillaire et de l'intestin grêle aux bacilles de la fièvre si le parenchyme pulmonaire et les ganglions trachéo-bronchiques n'étaient contaminés dans le même

TABLEAU XXI.

PRODUITS ENSEMENCÉS	INTERVALLES entre les inoculations et les ensemcements (Nombre de colonies rapporté à la masse totale du sang et des organes prélevés)					
	1 heure	3 heures	5 heures	6 heures	24 heures	48 heures
Sang . . . . .	6	120	300	0	0	0
Ganglions mésentériques . . . . .	4	4	32	0	0	0
Foie . . . . .	0	480	0	0	0	0
Rate . . . . .	14	0	120	0	0	0
Bile . . . . .	0	0	0	0	0	0
Poumons . . . . .	24	144	640	96	16	0
Ganglions trachéo-bronchiques . . . . .	4	30	32	2	0	0
Ganglions cervicaux et sous-maxillaires . . . . .	12	16	0	8	0	2

*Nota.* —  $\infty$ , colonies innombrables.

délai. Étant donné la précocité de la bacillémie, on peut supposer, en effet, avec J. Pampana, qu'un certain nombre de germes ingérés pénètrent dans la trachée et atteignent d'emblée les poumons, d'où ils passent dans le sang, soit directement à travers les capillaires, soit indirectement par l'intermédiaire des voies lymphatiques. C'est pourquoi nous avons cru nécessaire de répéter l'expérience qui précède, en adoptant la technique de l'auteur italien.

EXPÉRIENCE XVI. — Des cobayes adultes, mis à jeun pendant vingt-quatre heures et préalablement trachéotomisés, reçoivent *per os*, à la pipette, 30 centigrammes de bacilles de la fièvre en suspension dans 1 cent. cube d'eau glucosée. L'opération préliminaire consiste à sectionner la trachée dans son premier tiers et à lier solidement le bout inférieur. Lorsqu'on évite la rétraction du bout inférieur en l'attirant au dehors et en le fixant au moyen d'un fil aux muscles latéraux voisins, les animaux ainsi opérés peuvent survivre plus de quarante-huit heures. On les sacrifie par ponction cardiaque et on enseme leur sang, leurs ganglions lymphatiques et leurs viscères comme précédemment (Tableau XXII).

Bien que les résultats ainsi obtenus diffèrent sensiblement des précédents (1), surtout en ce qui concerne le sang et les organes abdominaux, cette expérience fournit la preuve que les bacilles de la fièvre, lorsqu'ils sont administrés *per os* au cobaye adulte, sont absorbés au niveau des voies digestives, en particulier dans la région tonsillaire, et qu'ils passent dans la circu-

TABLEAU XXII.

PRODUITS ENSEMENCÉS	INTERVALLES entre l'infection et les ensemencements (Nombre de colonies rapporté à la masse totale du sang et des organes prélevés)							
	1 heure	2 heures	4 heures	5 heures	6 heures	16 heures	18 heures	24 heures
Sang. . . . .	0	0	0	9	0	0	0	0
Ganglions mésentériques . . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0
Foie. . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0
Rate . . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0
Bile . . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0
Poumons . . . . .	0	72	0	120	640	72	240	48
Ganglions trachéo-bronchiques . . . . .	0	12	2	12	32	0	0	0
Ganglions cervicaux et sous-maxillaires.	0	60	0	0	0	0	0	0

lation sanguine après avoir cheminé dans les lymphatiques. Elle établit également, d'une façon évidente, que l'infection pulmonaire résulte, non pas de la pénétration directe des germes dans l'arbre respiratoire, mais de la bacillémie initiale.

L'expérience qui suit permet enfin d'inférer que la contamination des ganglions mésentériques, telle qu'elle ressort du tableau XXI, s'effectue d'emblée par la voie des lymphatiques afférents et non par l'intermédiaire des vaisseaux sanguins qui irriguent ces organes.

EXPÉRIENCE XVII. — Des cobayes à jeun depuis vingt-quatre heures reçoivent par la voie trachéale 10 milligrammes de bacilles de la fièvre. On les sacrifie ensuite à divers intervalles et on opère comme précédemment (tableau XXIII).

(1) Il faut tenir compte de ce fait que, ayant été administrée en un seul temps à la pipette, la suspension bacillaire a séjourné moins longtemps dans la cavité buccale que les bacilles ingérés par petites portions avec du pain.

TABLEAU XXIII.

PRODUITS ENSEMENCÉS	INTERVALLES entre l'infection et les ensemencements (Nombre de colonies rapporté à la masse totale du sang et des organes prélevés)			
	7 heures	24 heures	48 heures	6 jours
Sang . . . . .	120	0	0	0
Ganglions mésentériques . . . . .	0	0	0	0
Bile . . . . .	0	0	0	0
Ganglions trachéo-bronchiques . . . . .	8	8	8	60
Ganglions cervicaux . . . . .	600	∞	∞	0
Moelle osseuse (fémur) . . . . .	10	0	10	∞

L'absorption des bacilles de la fièvre, administrés *per os*, est précoce, brève et restreinte à un petit nombre d'éléments. Elle est influencée par l'âge des animaux, par la durée du jeûne auquel ils ont été préalablement soumis, par le véhicule, liquide ou solide des bacilles, qui assure leur contact plus ou moins étroit et plus ou moins prolongé avec les formations lymphoïdes de la muqueuse digestive et, surtout, par la finesse des suspensions administrées. C'est à l'intervention de ces divers facteurs, dont A. Calmette, avec C. Guérin et H. Vallée ont déjà signalé l'importance dans la tuberculose expérimentale des bovidés, qu'il convient d'attribuer l'irrégularité des résultats obtenus par divers auteurs et par nous-mêmes aussi bien dans l'infection paratuberculeuse que dans l'infection tuberculeuse *per os*.

#### B. — ABSORPTION DES BACILLES TUBERCULEUX ADMINISTRÉS « PER OS » AU COBAYE ADULTE.

Afin d'éviter la cause d'erreur qui réside, comme le démontrent les expériences précédentes, dans la possibilité d'une bacillémie initiale, nous avons tout d'abord cherché à déterminer la dose minimum de bacilles tuberculeux susceptible d'infecter régulièrement *per os* le cobaye adulte de 350 à 400 grammes.



EXPÉRIENCE XVIII. — Dix-huit cobayes, à jeun depuis la veille, ingèrent, avec de la mie de pain, les uns 0 milligr. 03, les autres 0 milligr. 05 de bacilles virulents (souche bovine Vallée), en suspension dans 0 c. c. 5 d'eau physiologique. Puis un, trois, cinq, douze, vingt-cinq, quarante-deux, quarante huit, soixante-trois, soixante-quatorze, quatre-vingt-quatre jours après ce repas infectant, on sacrifie un animal de chaque lot et on prélève aseptiquement ses ganglions sous-maxillaires avec les cervicaux, ses ganglions mésentériques avec l'iléo-cæcal et ses ganglions trachéo-bronchiques qui sont broyés séparément, mis en suspension dans 5 cent. cubes d'eau physiologique et inoculés à des cobayes par la voie sous-cutanée.

Aucun de ces animaux n'est devenu tuberculeux.

EXPÉRIENCE XIX. — Huit cobayes, à jeun depuis vingt-quatre heures, ingèrent 0 milligr 2 de bacilles bovins virulents. L'inoculation de leurs ganglions et de leurs poumons, prélevés après des délais variables, a donné les résultats suivants (tableau XXIV) :

TABEAU XXIV.

ORGANES PRÉLEVÉS	RÉSULTATS DES INOCULATIONS Intervalles entre l'infection <i>per os</i> et les prélèvements					
	24 heures	6 jours	12 jours	19 jours	27 jours	43 jours
Ganglions sous-maxillaires et cervicaux . .	0	0	0	0	0*	Présence de lésions macroscopiques dans les ganglions de l'animal sacrifié à cette date.
Ganglions mésentériques. . . . .	0	+	0	+	0*	
Ganglions trachéo-bronchiques. . . . .	0	0*	0	0	+	
Poumons . . . . .	0	0	0	0	+	

*Nota.* — Le signe 0\* indique que les cobayes inoculés avec le produit de broyage des ganglions ou des poumons sont morts en moins de six semaines.

EXPÉRIENCE XX. — Seize cobayes, divisés en deux lots, ingèrent, dans les mêmes conditions que les précédents, 20 milligrammes de bacilles bovins virulents.

TABEAU XXV (1<sup>re</sup> série).

ORGANES PRÉLEVÉS	RÉSULTATS DES INOCULATIONS Intervalles entre l'infection <i>per os</i> et les prélèvements					
	16 heures	48 heures	6 jours	13 jours	23 jours 1 <sup>er</sup> cobaye	23 jours 2 <sup>e</sup> cobaye
Ganglions sous-maxillaires et cervicaux.	0	0	0	0	0	0
Ganglions mésentériques . . . . .	0	0	0	0	+	+
Ganglions trachéo-bronchiques . . . . .	0	0	0	0	+	+
Poumons . . . . .	0	0	0	0	+	+

Présence de lésions macroscopiques dans les ganglions de l'animal sacrifié à cette date.

TABLEAU XXVI (2<sup>e</sup> série).

ORGANES PRÉLEVÉS	RÉSULTATS DES INOCULATIONS Intervalles entre l'infection <i>per os</i> et les prélèvements					
	24 heures	5 jours	12 jours	27 jours	31 jours	41 jours
Ganglions sous-maxillaires et cervicaux . .	+	+	+	0	0	+
Ganglions mésentériques . . . . .	0	0	0	+	+	+
Ganglions trachéo-bronchiques . . . . .	0	0	0	+	0*	0*

*Nota.* — Le signe 0\* indique que les cobayes inoculés avec le produit de broyage des ganglions ou des poumons sont morts en moins de six semaines.

EXPÉRIENCE XXI. — Huit cobayes ingèrent, dans les mêmes conditions que les précédents, 10 milligrammes de bacilles bovins virulents.

TABLEAU XXVII.

ORGANES PRÉLEVÉS	RÉSULTATS DES INOCULATIONS Intervalles entre l'infection <i>per os</i> et les prélèvements					
	18 heures	3 jours	7 jours	13 jours	20 jours	28 jours
Ganglions sous-maxillaires et cervicaux . .	0	0	0	0	0	+
Ganglions mésentériques . . . . .	0	0	0	+	+	+
Ganglions trachéo-bronchiques . . . . .	0	0	0	0*	0	+
Poumons . . . . .	0	0	0	0	0	+
Rate . . . . .	0	0	0	0*	+	+

Le signe 0\* indique que les cobayes inoculés avec le produit de broyage des ganglions ou des poumons sont morts en moins de six semaines.

Moins de dix-huit heures après le repas infectant (expériences XX et XXI), on trouve des bacilles acido-résistants en très grand nombre dans les déjections; leur expulsion se poursuit le deuxième jour, puis elle paraît cesser brusquement. Nous avons essayé de suivre leur transit en prélevant, chaque jour après l'infection, 0 gr. 50 à 1 gramme du contenu de l'intestin grêle, du cæcum et du rectum et en inoculant séparément à des cobayes ces matières traitées au préalable par l'acide

sulfurique dilué à 6 p. 100, selon la méthode de Löwenstein-Hohn. Les résultats de ces inoculations démontrent, comme l'examen microscopique, que les bacilles virulents ingérés sont rapidement éliminés et qu'ils ne provoquent pas, dans la première phase de la maladie au moins, de lésions ulcé-

TABLEAU XXVIII.

PRODUITS INOCULÉS	RÉSULTATS DES INOCULATIONS Intervalles entre l'infection et les prélèvements					
	16 heures	48 heures	6 jours	7 jours	13 jours	20 jours
Contenu de l'intestin grêle . . . . .	0	0	0			
Contenu du cæcum . . . . .	+	+	0			
Contenu du rectum. . . . .	+	0	0	0	0	+

reuses comparables à celles qui font suite à l'inoculation intradermique.

De l'ensemble de nos constatations, il ressort que l'infection tuberculeuse par les voies digestives ne se manifeste, chez le cobaye adulte, par la virulence des ganglions annexes du tube digestif et par la formation de lésions évolutives, que lorsqu'on administre des doses de bacilles supérieures à 0 milligr. 05. On ne peut cependant en conclure que la muqueuse digestive se prête peu à l'absorption du bacille de Koch, car on doit tenir compte de ces faits que les germes ingérés sont dilués et englobés dans une masse considérable de matières semi-liquides, qu'ils sont rapidement entraînés dans les segments imperméables de l'intestin, et qu'ils ont peu de chances d'entrer en contact avec la muqueuse, protégée par ses sécrétions, et d'être retenus à sa surface.

Lorsqu'on administre *per os* à des cobayes des doses de bacilles égales ou supérieures à 0 milligr. 05, presque tous contractent la tuberculose. L'infection débute tantôt par les ganglions sous-maxillaires et cervicaux supérieurs, comme de nombreux auteurs (J. Koch et W. Baumgarten, A. Puppe, Bruno Lange, etc.) l'ont constaté avant nous, tantôt, et le plus souvent, par les ganglions mésentériques.

Assez fréquemment toutefois, les ganglions mésentériques ne deviennent virulents qu'après une incubation de plusieurs jours, ce qui permet de conjecturer l'existence d'une étape intermédiaire dans le tissu lymphoïde des surfaces absorbantes. Il semble que les bacilles, après qu'ils ont traversé l'épithélium de la muqueuse, soient pour la plupart immédiatement arrêtés dans leur migration et qu'ils prolifèrent sur place, pendant un certain délai, sans créer de lésions macroscopiques.

Sauf de rares exceptions, qui tiennent à la pénétration directe, accidentelle, de bacilles dans les voies respiratoires, l'infection des poumons et des ganglions trachéo-bronchiques est postérieure à l'infection mésentérique ou cervicale. Dans un cas, nous avons observé que les ganglions trachéo-bronchiques contenaient des bacilles alors que l'inoculation des poumons s'était montrée négative, mais on ne saurait en tirer aucune conclusion, étant donné qu'une partie seulement des poumons a été inoculée et que cet organe ne peut être aussi finement dissocié par le broyage avec du sable que les ganglions lymphatiques.

Même lorsqu'elle résulte d'une ingestion massive de bacilles virulents, l'infection tuberculeuse *per os* évolue avec lenteur. Néanmoins elle se traduit assez régulièrement vers la cinquième ou la sixième semaine par l'hypertrophie, bientôt suivie de dégénérescence caséeuse, des ganglions sous-maxillaires, mésentériques, sous-lombaires et rétro-hépatiques et trachéo-bronchiques. Les animaux succombent entre le sixième et le douzième mois, parfois plus tardivement encore, avec des lésions généralisées non seulement aux viscères abdominaux et thoraciques, mais aussi aux ganglions lymphatiques superficiels.

L'infection des ganglions et des viscères, produite par une dose limite de bacilles virulents, se poursuit si lentement que l'absorption des germes et leur progression initiale dans l'organisme du cobaye adulte paraissent s'effectuer presque exclusivement par l'intermédiaire des voies lymphatiques. Par le fait même qu'elle reste longtemps silencieuse et cantonnée dans le système lymphatique, cette forme particulière de l'infection expérimentale du cobaye peut être comparée à la tuberculose occulte de l'homme et des bovidés.



### Conclusions.

Les bacilles tuberculeux que l'on inocule au cobaye ou au lapin pénètrent dans les voies lymphatiques, puis dans les voies sanguines, et se déposent dans les viscères. La durée de cette première phase de l'infection tuberculeuse (stade de dispersion bacillaire lympho-hématogène) varie selon les voies de l'inoculation, le nombre et la virulence des bacilles inoculés.

Dans les infections massives, quel qu'en soit le mode, la bacillémie débute au cours de la première heure qui suit l'inoculation; elle augmente ensuite progressivement et persiste jusqu'à la mort. Les lésions viscérales, qui procèdent de la dispersion hématogène initiale des bacilles, deviennent ensuite la source de surinfections de voisinage par la voie lymphatique et de surinfections éloignées par la voie sanguine. Elles s'étendent rapidement et se généralisent à bref délai.

Lorsqu'ils sont inoculés à dose modérée ou faible, les bacilles tuberculeux atteignent en quelques minutes ou quelques heures les ganglions lymphatiques régionaux, mais la bacillémie, qui se réduit à quelques éléments, apparaît après une période d'autant plus longue que le nombre de germes administrés est moins élevé. Les lésions viscérales qu'elle détermine consistent tout d'abord en quelques foyers isolés qui s'accroissent et se multiplient lentement.

Certains tissus, comme le parenchyme pulmonaire et les séreuses, paraissent plus propices que le tissu conjonctif sous-cutané ou sous-muqueux à la dispersion hématogène des bacilles tuberculeux et des bacilles paratuberculeux. Cette particularité, qui dépend surtout de l'étendue de la surface d'absorption et de la multiplicité des foyers réactionnels initiaux, explique la gravité plus grande de l'infection pulmonaire, pleurale ou péritonéale primitive, comparativement à l'infection sous-cutanée ou digestive.

Du fait que les bacilles de Koch morts et les bacilles paratuberculeux de la fléole se disséminent comme les bacilles tuberculeux vivants, quoique en moins grande abondance, on peut conclure que la dispersion hématogène initiale de tous ces

germes dépend moins de leurs propriétés pathogènes que de leur nombre et de leur structure ciro-graisseuse. La bacillémie représente donc un épiphénomène de l'infection tuberculeuse et non un de ses aspects bactériologiques essentiels, mais son intensité et sa durée sont étroitement liées à la virulence des bacilles, c'est-à-dire à leur aptitude à se multiplier dans les tissus où ils sont déposés.

Dans quelques circonstances, en particulier dans l'infection produite par l'ingestion d'une très petite quantité de germes virulents, la bacillémie peut être si médiocre et si tardive que l'immunité acquise par l'organisme pendant la période d'incubation contrarie ses effets. Les altérations viscérales dont elle est la source intermittente ne se manifestent alors qu'après un très long délai; elles restent ensuite le plus souvent localisées à un seul organe, où elles se développent par essaimage local, d'ordre lymphatique, et par coalescence des foyers. Parfois même, les lésions se cantonnent dans le système lymphatique, réalisant ainsi le type des infections latentes ou occultes qui constituent la forme la plus dégradée de la tuberculose naturelle de l'homme et des animaux.

#### BIBLIOGRAPHIE

- ALEXA (E.), *Thèse Paris*, 1928. Ces *Annales*, **42**, 1928, p. 1366.  
 ARLOING (S.), *Leçons sur la tuberculose et certaines maladies septicémiques*, 1892, p. 112.  
 BARON (L.), *Thèse Paris*, 1913.  
 BECKWITH (T.) et MILLZNER (R.), *Amer. Rev. of tuber.*, **13**, 1926, p. 62.  
 BEHRING (Von), *Deut. med. Woch.*, **29**, 1903, p. 689; **30**, 1904, p. 193.  
 BERGERON (A.), *Thèse Paris*, 1904.  
 BERNARD (L.), DEBRÉ (R.) et BARON (L.), *Ann. Méd.*, **1**, 1914, p. 217.  
 BISANTI (C.) et PANISSET (L.), *C. R. Soc. de Biol.*, **58**, 1905, p. 91.  
 BOQUET (A.), *C. R. Soc. de Biol.*, **96**, 1927, p. 176.  
 BOQUET (A.), NÈGRE (L.) et VALTIS (J.), *C. R. Soc. de Biol.*, **101**, 1929, p. 644; **103**, 1930, pp. 1225, 1227 et 1229.  
 BOQUET (A.) et SAENZ (A.), *C. R. Soc. de Biol.*, **105**, 1930, pp. 260 et 506.  
 BOQUET (A.) et VALTIS (J.), *C. R. Soc. de Biol.*, **104**, 1930, pp. 1182 et 1184.  
 BRETON (M.), MASSOL (L.) et DUHOT (E.), *C. R. Soc. de Biol.*, **74**, 1913, p. 792.  
 BUXTON (D. H.), *Journ. med. Res.*, **16**, 1907, pp. 1 et 251.  
 CALMETTE (A.), *Bull. Inst. Pasteur*, **5**, 1907, p. 729.  
 CALMETTE (A.) et GUÉRIN (C.), Ces *Annales*, **19**, 1905, p. 601; **20**, 1906, pp. 353 et 609; **42**, 1928, p. 174.

- CALMETTE (A.) et GRYZEZ (V.), *C. R. Acad. des Sc.*, **157**, 1913, p. 981; **158**, 1914, p. 1315.
- CARVALHO (L. DE) et FERREIRA DE MIRA, *C. R. Soc. de Biol.*, **98**, 1928, pp. 81, 84 et 480; *Revue de la Tuberc.*, **10**, 1919, p. 202.
- CHAUVEAU (A.), *Bull. Acad. de Méd.*, **33**, 1868, p. 1007; *C. R. Acad. des Sc.*, **144**, 1907, pp. 777 et 817.
- COBBET (L.), *Journ. path. a. bacter.*, **14**, 1910, p. 563.
- DELÉPINE (S.), *Ces Annales*, **30**, 1916, p. 600.
- GARDNER (L. U.), *Amer. Rev. of tuber.*, **20**, 1929, p. 201.
- GRIFFITH (A. S.), *Soc. inter. rep. of the Roy. Comm. on tuber.*, Londres, App., **1**, 1907, pp. 628 et 696.
- HOSOMI (K.), *Mitt. Jap. Tuberc. Gesundh.*, **4**, 1926; **5**, 1927; *Anal. in Cent. f. Gesundh. Tuberk.*, **28**, 1928, pp. 438 et 439.
- JEANNEL, Congrès de la tuberculose, Paris, 1898.
- KOCH (J.) et BAUMGARTEN (W.), *Deut. med. Woch.*, **48**, 1922, p. 1096; *Zeit. f. Hyg.*, **98**, 1923, p. 477.
- KOENIGSFELD (H.), *Cent. f. Bakt.*, **106**, 1928, p. 111.
- KRAUSE (A.), *Amer. Rev. of tuber.*, **4**, 1920, p. 135; **6**, 1922, p. 1; **14**, 1926, pp. 211 et 243; *Bull. Un. intern. contre la tuberc.*, **1**, 1924, p. 13.
- KUSS (G.), *Thèse Paris*, 1898.
- LANGE (B.), *Zeits. f. Hyg.*, **103**, 1924, p. 1.
- LÖWENSTEIN, *Zeit. f. Tuberk.*, **42**, 1925, p. 177.
- MIJAKI, *Mitt. Jap. Tuberk. Gesundh.*, **4**, 1926; *Anal. in Zent. f. gesund. Tuberk.*, **28**, 1928, p. 441.
- NÉLIS (P.), *C. R. Soc. de Biol.*, **97**, 1927, p. 1453; **102**, 1930, pp. 581 et 589; *Ces Annales*, **45**, 1930, p. 581.
- NÉLIS (P.) et VAN BOREKEL, *C. R. Soc. de Biol.*, **99**, 1928, pp. 1248, 1251 et 1883.
- NICOLAS et DESCOS, *C. R. Soc. de Biol.*, **54**, 1902, p. 977.
- ŒHLECKER, *Tuber. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.*, **7**, 1907, p. 65.
- PAMPANA (J.), *Ann. Igiene*, **39**, 1929, p. 904.
- PUPPE (A.), *Beil. z. Klin. d. Tuberk.*, **55**, 1923, p. 63.
- RAVENEL, *Journ. of exp. res.*, **10**, 1903, p. 460.
- SAENZ (A.), *C. R. Soc. de Biol.*, **102**, 1929, p. 833.
- SAENZ (A.) et VAN DEINSE, *C. R. Soc. de Biol.*, **103**, 1930, p. 574.
- SANARELLI (G.), *Ces Annales*, **37**, 1923, p. 364.
- SATAKE (K.), *Ces Annales*, **41**, 1927, p. 1334.
- SCHLOSSMANN et ENGEL, *Deut. med. Woch.*, **32**, 1903, p. 1070.
- VALLÉE (H.), *Ces Annales*, **19**, 1905, p. 619; *C. R. Acad. des Sc.*, **142**, 1906, p. 1101.
- VALTIS (J.), *C. R. Soc. de Biol.*, **94**, 1926, p. 1112.
- WEIGERT, *Deut. med. Woch.*, **29**, 1903, p. 735.
- WELLS (G. H.) et JOHNSTONE (C. P.), *Journ. inf. dis.*, **4**, 1907, p. 582.
- WILLIS (H.), *Amer. Rev. of tuber.*, **11**, 1925, p. 427.

## LA TUBERCULOSE PAR CONTAMINATION NATURELLE CHEZ LE LAPIN

par E. COULAUD

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

*(Travail des laboratoires du D<sup>r</sup> E. Rist à l'hôpital Laennec  
et du professeur Calmette à l'Institut Pasteur.)*

Depuis une douzaine d'années, dans le laboratoire du D<sup>r</sup> E. Rist, à l'hôpital Laennec, et simultanément dans le laboratoire du P<sup>r</sup> Calmette, à l'Institut Pasteur, j'ai poursuivi des recherches diverses en utilisant le lapin comme animal d'expérience.

Assez souvent, j'ai été frappé de constater l'existence de lésions tuberculeuses chez des animaux n'ayant jamais été inoculés. Ces cas peuvent se diviser en deux grands groupes :

1° Les animaux ayant contracté la tuberculose présentaient dans leurs ascendants des lapins tuberculeux, ceux-ci ayant été inoculés, ou étant porteurs eux-mêmes d'une tuberculose contractée auprès d'un autre animal malade ;

2° Les animaux tuberculeux appartenaient à une famille indemne de tuberculose et n'avaient contracté cette affection qu'après avoir été mis au contact d'un animal infecté.

J'ai déjà étudié dans deux publications (1) une partie des faits rangés dans le premier groupe, mais j'ai pu réunir de nouvelles observations, et, à mon sens, la question doit être reprise dans son ensemble.

(1) E. COULAUD : Trois cas de tuberculose pulmonaire spontanée dans la progéniture d'une lapine granulique. Section d'études scientifiques de l'Oeuvre de la tuberculose. Séance du 13 mai 1922.

E. COULAUD : La tuberculose par contamination naturelle chez le lapin. Ces *Annales*, 38, juillet 1924, p. 581.



I. — LA TUBERCULOSE PAR CONTAMINATION NATURELLE  
CHEZ LES ANIMAUX DE SOUCHE TUBERCULEUSE.

Dans mes deux premières publications sur ce sujet j'avais exposé longuement l'histoire de la progéniture du lapin 167,



FIG. 1. — Poumon (grandeur naturelle) du lapin Z18.

animal inoculé par voie intraveineuse le 22 mars 1921 (8/10 de milligramme de la souche AY, isolée directement, par le D<sup>r</sup> G. Kuss, d'un pus de pyopneumothorax). Cet animal, mort de granulie généralisée vingt-cinq jours après l'inoculation intraveineuse de bacilles virulents, avait mis bas 4 petits huit jours après l'infection expérimentale. Ces jeunes lapins avaient été séparés, à l'âge de treize jours, de leur mère déjà asphyxique, leur état étant misérable ; la mère ne pouvant plus les nourrir, ils avaient été nourris au lait de vache, à l'aide d'une pipette.

A quarante et un jours, l'un d'eux, le Z 18, mourut. A l'autopsie, je trouvai sur un poumon une lésion ovale blanche, et autour de ce foyer principal je constatai de fines granulations (fig. 1). Il s'agissait là d'un véritable « chancre d'inoculation » très riche en bacilles de Koch (1).

Je conservai les 3 autres petits lapins. L'un, le 183, mourut à un an, le 18 mars 1922, après quelques jours de dyspnée

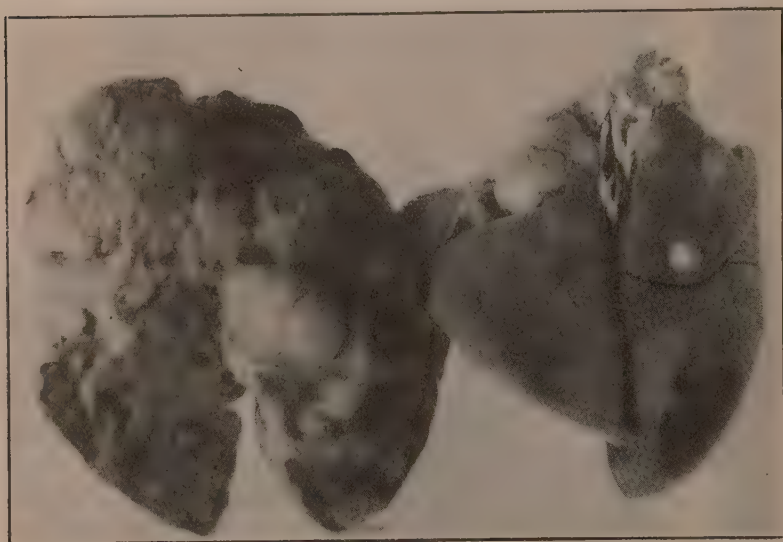


FIG. 2. — Poumons des lapins 183 et 182.

progressive. L'autopsie permit de constater l'existence d'une tuberculose pulmonaire généralisée (fig. 2).

Les 2 autres lapins furent alors sacrifiés : l'un, le 182, présentait dans son poumon gauche, à la partie inférieure du lobe supérieur, une importante lésion caséuse d'un centimètre de diamètre, limitée en bas par la scissure interlobaire. A droite, existaient trois petits nodules caséux du volume d'un pois (fig. 2).

Le 181F était indemne.

Avant leur mort, j'avais fait reproduire le 183M et le 182F.

(1) Je dois mes remerciements à M. Jeantet pour les microphotographies qu'il a bien voulu faire pour ce travail.

Le 10 février, j'ai obtenu une portée de 7 petits lapins bien constitués, que j'ai laissés trente jours au contact de leurs parents tuberculeux. Sur ces 7 lapins, 3 (337, 342, 343) sont morts de pasteurellose. L'autopsie n'a pas permis de déceler de lésions tuberculeuses, mais les lésions nécrotiques étendues qu'ils portaient au niveau des poumons rendaient cet examen assez illusoire.

Un autre, le 338, *est mort de tuberculose pulmonaire et rénale*, à l'âge de trois mois et demi (fig. 3). On lui découvrait, en

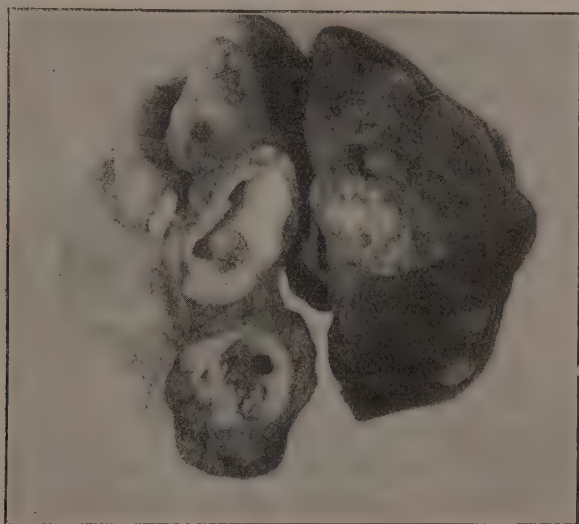


FIG. 3. — Poumons du lapin 338.

outre, un gros bloc caséeux abdominal, dans lequel on retrouvait des anses intestinales et des masses ganglionnaires.

Les 3 autres lapins de cette portée, tuberculinsés à trois reprises, n'ont jamais réagi. Cependant, sacrifiés en septembre 1923, j'ai trouvé, chez l'un d'eux (337), de petits tubercules caséeux pulmonaires, très bien limités, de 1 à 2 millimètres de diamètre.

Avant sa mort, j'avais fait reproduire également le 181 F avec le 183 M. Trois petits sont nés le 15 janvier 1922. Le 331 a été sacrifié en bonne santé le 14 novembre 1922. Il n'avait aucune lésion. Le 332 est mort le 11 avril 1922, de pasteurellose,

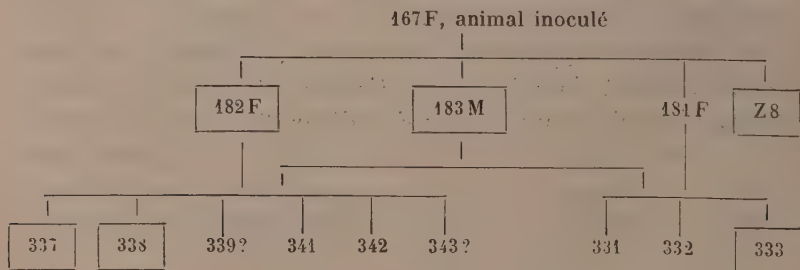
Le 333 (autopsie pratiquée le 2 novembre 1922) présentait un tubercule pulmonaire parfaitement isolé (fig. 4 et planche II, fig. 5), dans lequel des bacilles ont pu être mis en évidence. Ainsi, dans ce cas, le seul animal infecté ne montrait que des lésions peu évolutives. Il est vrai qu'il s'agissait d'un animal né de mère saine et que le père seul avait des lésions tuberculeuses. Il n'en était pas de même du lapin 338. Le père et la mère de celui-ci présentaient dans leurs poumons d'énormes lésions caséuses.

J'ai tenu à suivre longuement la descendance de cette famille de lapins et j'ai pu observer ces animaux pendant six générations. J'ai interrompu cette expérience en 1927; l'étude de ces six générations représente 55 animaux chez lesquels je n'ai pu relever aucun nouveau cas de tuberculose. A vrai dire, à plusieurs reprises, j'ai cru me trouver devant de nouvelles localisations de bacille de Koch. Chez le 340 notamment, j'ai découvert à l'autopsie d'énormes lésions caséuses des trompes et de l'utérus. Mais le pus inoculé au cobaye n'a pas tuberculisé cet animal.

Dans une autre génération, j'ai découvert un énorme abcès caséux du fond de l'orbite, ayant déterminé pendant la vie de l'animal une exophtalmie importante. Mais, chez ce lapin (419), aucun bacille n'a pu être mis en évidence et l'inoculation du pus au cobaye s'est également montrée négative.

Chez le 582, l'autopsie m'a montré l'existence, à la face postérieure d'un poumon, d'un petit abcès pédiculé. Il ne s'agissait pas non plus d'un abcès tuberculeux.

Ci-joint un petit tableau (1) montrant plus clairement la répartition des cas de tuberculose dans cette famille.



(1) Les chiffres encadrés correspondent aux animaux qui ont contracté la tuberculose.



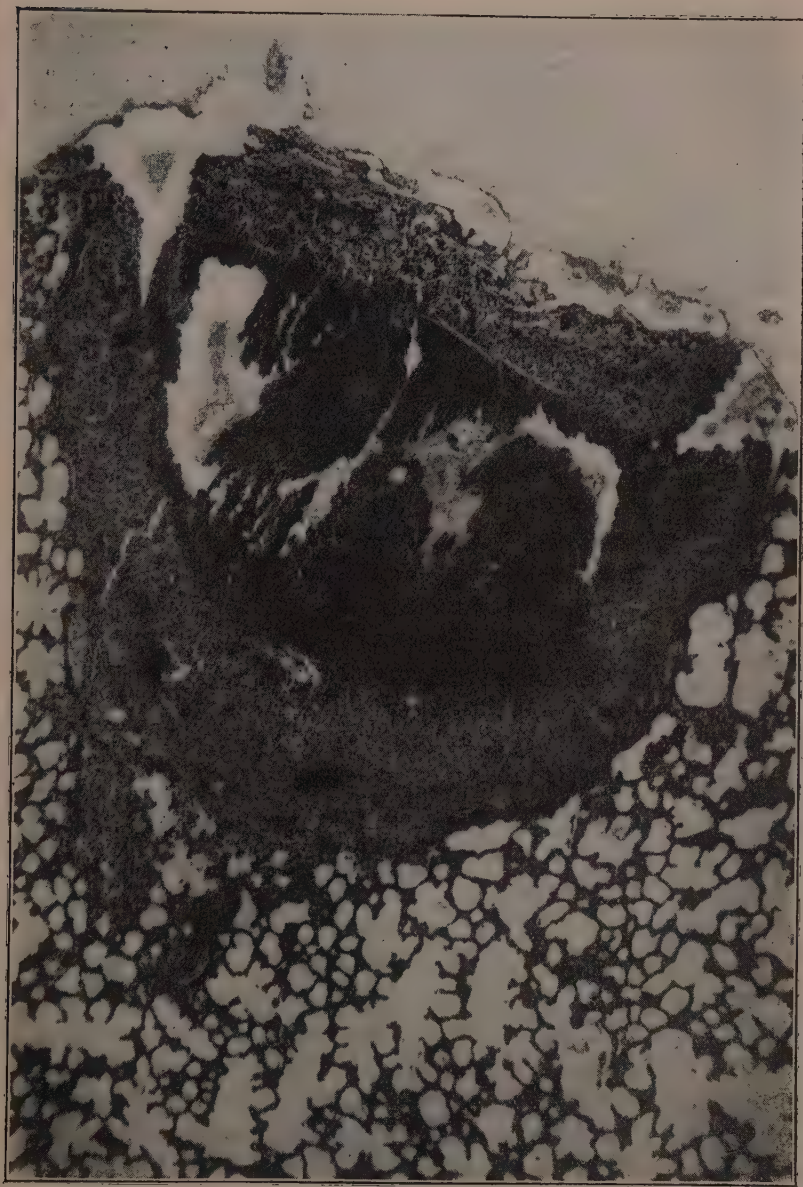


FIG. 4. — Tubercule pulmonaire isolé découvert chez le lapin 333  
(grossissement : 50 diamètres).

Il faut ajouter que chez deux animaux, le 339 et le 343, j'ai

découvert dans les poumons quelques très fines granulations constituées presque uniquement par des lymphocytes. Je reviendrai sur des faits analogues, car je crois qu'il s'agit là, probablement, de lésions tuberculeuses cicatrisées; en outre, il existait une hyperplasie manifeste des nodules lymphoïdes juxta-bronchiques, hyperplasie que l'on retrouve toujours après les infections expérimentales par bacilles morts ou non virulents (1).

Oltre les 6 cas de tuberculose observés dans cette famille, j'ai observé 2 autres cas survenus dans la progéniture d'un couple de lapins (136 F et 123 M), inoculés avec un bacille bovin peu virulent. Cette inoculation (voie intra-veineuse, 1/10 de milligramme) avait été pratiquée le 10 mars 1921.

Le 136 F mit bas cinq petits le 22 avril 1921; il mourut le 17 juin. Les petits étaient donc restés deux mois au contact de leur mère et au contact de leur père, le 133 M, également tuberculeux.

Deux de ces petits ont malheureusement cessé de nous intéresser, car, à la suite de plusieurs réactions tuberculiniques négatives, il en fut disposé, le 23 avril 1923, pour d'autres expériences. Des trois autres, l'un est mort à l'âge de quinze jours et l'autopsie n'a pas été pratiquée. Les deux derniers, devenus cachectiques, ont été sacrifiés. L'un, à cinq mois et demi (le Z16), avait des lésions pulmonaires très discrètes; certaines n'étaient que de simples amas lymphoïdes, analogues à ceux que nous venons de signaler chez trois animaux de la famille précédente; mais, à côté de ceux-ci, on notait plusieurs follicules tuberculeux typiques. L'autre, le Z18, qui était devenu rapidement paraplégique, fut sacrifié à l'âge de trois mois. Il présentait une tuberculose plus nette, un certain nombre de follicules tuberculeux dans les poumons, follicules bien limités; en outre, une tuberculose rénale tout à fait typique, avec placards scléreux et distension kystique des *tubuli contorti*. A côté de ces lésions scléreuses du rein, si fréquentes chez le lapin, on rencontrait ailleurs de petits foyers évolutifs. Dans cette famille, sur deux animaux autopsiés, deux avaient donc des lésions tuberculeuses.

(1) E. COULAUD : Effets des injections intraveineuses massives de BCG. Ces *Annales*, 41, 1927, p. 289.

Dans une troisième famille de lapins, j'ai pu observer deux autres cas de tuberculose. Il s'agissait de lapins nés d'un couple formé par le 360 M, qui avait été inoculé par voie digestive, et le 176, lapine très âgée, dont il sera longuement question ultérieurement et qui avait contracté la tuberculose auprès d'un animal infecté. Sur les six petits lapins nés le 16 novembre 1922, l'un, le 455, mourut de pasteurellose; le 454 et le 457 ne montraient, quand ils furent sacrifiés à l'âge de six ou huit mois, aucune lésion suspecte. Le 456 qui avait été soumis à une autre expérience (injection de paraffine sous-cutanée, et qui avait été conservé plus longtemps) présentait des granulations dans les poumons. Ces granulations étaient surtout composées de lymphocytes et, n'ayant pu découvrir nulle part la structure classique du follicule tuberculeux, je ne puis le faire figurer dans ce travail comme un cas de tuberculose. Il est à rapprocher des faits que nous avons précédemment signalés. Mais le numéro 459, sacrifié deux ans plus tard, était atteint de tuberculose pulmonaire et rénale (planche II, fig. 6, 7, 8, et planche III, fig. 9). Sur la foi de réactions tuberculiniques négatives, cet animal supposé neuf avait été prêté à un service d'ophtalmologie où on lui avait injecté dans la cornée un germe de kératite banale, sans succès d'ailleurs. Il est impossible de ne pas songer à la conclusion qui aurait été tirée de ce cas de tuberculose spontanée si cet animal avait reçu en injections un produit supposé tuberculeux. Sans doute, l'expérimentateur eût pu conclure de bonne foi à la virulence de ce produit. Quant au 458, dernier animal du lot, sacrifié également âgé, à l'âge de deux ans et demi, il présentait un rein atrophié scléreux portant à sa surface des cicatrices déprimées et dont toute la médullaire rénale était remplacée par un volumineux calcul de 6 à 8 millimètres de diamètre, occupant tout le bassinet distendu. Dans presque toute l'étendue du rein on remarquait des zones scléreuses irrégulières, en forme de coin, à pointe orientée vers la médullaire rénale. Ces caractères rappelaient déjà singulièrement la tuberculose rénale du lapin en voie de guérison. J'ai pu découvrir, en outre, des zones scléreuses moins bien organisées, au milieu desquelles on rencontrait encore des travées de cellules épithélioïdes. Il s'agissait, dans ce cas, d'une tuberculose rénale unilatérale à



forme scléreuse. Le calcul provenait vraisemblablement de la transformation calcaire de la lésion caséeuse du bassinet, dernier stade de la tuberculose du rein chez le lapin.

Un onzième cas de tuberculose par contamination spontanée est représenté par le numéro 576, lapin de quatre mois, qui avait reçu plusieurs injections d'un sérum thyro-toxique. Il portait dans son foie un follicule tuberculeux entouré d'un anneau scléreux. Ce follicule était très riche en cellules géantes, contenant des bacilles. Le 576 était issu d'une mère tuberculeuse, le 392F, inoculée un an auparavant avec un bacille humain (souche AY, 1/10 de milligramme par voie sous-cutanée). Il avait vécu trente jours à son contact.

Un douzième cas de tuberculose par contamination naturelle nous est fourni par le lapin 463, né le 2 octobre 1922 de parents infectés par un bacille bovin virulent. Cet animal, sacrifié le 18 décembre 1922, présentait des placards fibreux dans le poumon et plusieurs tubercules très fins, classiques.

Entre ces tubercules, constitués par des cellules géantes entourées de cellules épithélioïdes, avec zone lymphocytaire périphérique et d'autres follicules purement lymphocytaires, il existait toutes les transitions. Chez ses six frères et sœurs on trouva de très fines granulations à la surface des poumons, mais, à la coupe, je n'ai pas pu faire un diagnostic rigoureux, car il me fut impossible de découvrir un seul follicule tuberculeux typique.

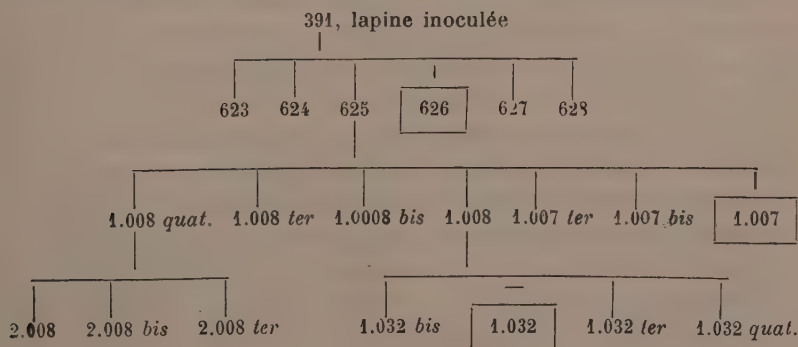
Un autre cas de tuberculose a été découvert chez le lapin 412, né le 26 septembre 1922, du 381 et du 199, infecté par un bacille bovin (souche dite bovine Vallée). Cet animal, sacrifié le 18 octobre 1923, avait une tuberculose rénale scléreuse et de petites granulations tuberculeuses dans les poumons. Un fait intéressant, et presque *exceptionnel* dans ces cas de tuberculose par contamination spontanée, est que le 412 avait réagi nettement à la tuberculine trois mois avant sa mort (398), six heures après injection intraveineuse de 1/10 de centimètre cube de tuberculine brute. Cet animal avait servi à des expériences faites pour déterminer au niveau de ses oreilles, à la suite de badigeonnages réguliers de goudron, un cancer expérimental. A ce niveau, d'ailleurs, la lésion n'avait pas dépassé le stade de volumineux papillomes.

Chez le lapin 586, né le 15 août 1923 et tué en très bonne



santé apparente le 21 décembre 1925, par des injections intra-veineuses massives d'extrait de rein, j'ai découvert des lésions tuberculeuses très discrètes des deux bases. Ces lésions offraient un aspect anthracosique. On notait un pointillé noirâtre sur le tiers inférieur et à la face postérieure des deux poumons. C'est à la coupe qu'on remarqua un certain nombre de follicules tuberculeux typiques. Le 586 avait un père sain, le 519; mais sa mère, le 392, avait été infectée le 31 juillet 1922, par voie sous-cutanée avec 1/10 de milligramme de bacille humain (souche AY du D<sup>r</sup> Kuss). Sacrifiée le 19 février 1925, cette femelle présentait sur les poumons trois ou quatre granulations extrêmement fines. Il est curieux de constater que des lésions aussi minimales aient pu se transmettre au numéro 586 qui était resté au contact de sa mère durant six semaines.

J'ai noté trois autres cas de tuberculose par contamination spontanée dans une même famille. Le 31 juillet 1922, j'avais infecté par voie sous-cutanée le lapin 391 avec 1/10 de milligramme de bacille humain AY. Cet animal, né le 8 juillet 1922, a été sacrifié le 1<sup>er</sup> octobre 1923. Il présentait, à ce moment, quatre ou cinq tubercules pulmonaires et des lésions fibro-caséennes importantes des reins. Cette femelle, couverte par un mâle sain, avait mis bas, le 15 juin 1923, six petits lapins. L'un d'eux, le 626, sacrifié le 25 avril 1925, avait des lésions tuberculeuses confluentes et une granulie rénale. Dans ce cas, j'ai cultivé sur milieu de Pétroff le bacille découvert chez cet animal et j'ai pu l'identifier. Il s'agissait du bacille AY, et sa virulence était rigoureusement semblable au bacille AY tel qu'il avait été injecté à la mère de cet animal, trois ans auparavant.



Les cinq frères et sœurs du lapin 626 ne présentaient pas de lésions tuberculeuses nettes. Toutefois, le 628 avait de l'antracose des bases et chez le lapin, quel que soit son âge, les lésions anthracosiques m'ont toujours paru la conséquence de lésions tuberculeuses cicatrisées, ou en voie de cicatrisation.

Le 625, sœur du précédent, mit bas, le 10 juillet 1925, sept petits. Sur ces sept petits, l'un, le 1007, mourut le 17 octobre 1928, après trois ou quatre jours de dyspnée progressive. Il présentait une tuberculose confluyente au niveau des deux poumons, et des lésions fibro-caséuses rénales. Les autres animaux de la portée furent utilisés pour diverses expériences, sauf le 1008 qui mourut le 23 juillet 1929 de pasteurellose; mais le 9 juin 1926 elle avait mis bas quatre petits, dont le 1032 qui mourut d'une tuberculose pulmonaire à fins nodules le 6 février 1929. Il avait en outre une tuberculose rénale et une tuberculose testiculaire droite.

Cultivées sur Pétroff, ces lésions donnèrent naissance à un bacille que j'injectai à toute une série de lapins, pour identification. Il s'agissait du bacille AY, et il présentait rigoureusement la même virulence que lorsque je l'avais injecté six ans auparavant à un ascendant de cet animal.

J'ai encore découvert un cas de tuberculose par contamination spontanée chez le lapin 421, né du 165 *bis*; femelle atteinte de tuberculose contractée spontanément auprès d'un mâle infecté par la bovine Vallée. Le 421, né le 5 novembre 1922, sacrifié le 4 janvier 1923, présentait une granulie discrète généralisée; les reins étaient sains, mais, dans le poumon, certaines granulations étaient parfaitement classiques, avec cellules géantes nombreuses, tandis qu'à côté on rencontrait des nodules fibreux qui témoignaient d'une certaine tendance à la guérison.

Quant au n° 548, dix-neuvième cas de tuberculose par contamination spontanée, observée dans la descendance de lapins tuberculeux, il était né du 100 *bis*, femelle infectée par la bovine Vallée le 2 juin 1923, et fut sacrifié le 14 novembre 1925. Il portait de très gros nodules évolutifs pulmonaires non encore arrivés au stade ultime.

Voici donc 19 cas de tuberculose observés chez des lapins

ayant présenté dans leurs ascendants des cas de tuberculose soit expérimentale, soit contractée spontanément.

Dans quelles conditions, ces cas de tuberculose se sont-ils produits?

Pour plusieurs (183, 182, Z8), le mécanisme de la contamination apparaît clairement et je me suis étendu longuement sur ce point particulier dans un précédent travail. Mais si la tuberculose m'a paru alors liée à l'ingestion de produits bacillifères; si, du fait de circonstances exceptionnelles, le problème a pu être considéré comme élucidé, on ne peut en dire autant dans la majorité des cas.

Seize fois la tuberculose a frappé des animaux dont le séjour auprès de leur mère tuberculeuse avait été assez long, de un à trois mois par exemple. La contamination par ingestion, mise en évidence dans 3 cas, pourrait encore ici être invoquée avec vraisemblance; mais l'inhalation, ou tout autre mode d'infection, pourrait l'être également sans qu'on puisse invoquer en faveur de l'une ou de l'autre de ces explications un argument irréfutable. On ne saurait évidemment être surpris de voir des animaux qui toussent, qui crachent (puisqu'ils évacuent au dehors le contenu de leurs cavernes), qui répandent à profusion par les urines et les matières fécales des bacilles virulents dans leur cage, contaminer leurs petits qui se trouvent à leur naissance dans les conditions d'âge les meilleures pour contracter la tuberculose.

Mais ce qui est curieux, c'est de voir des animaux infectés avec un bacille humain, si virulent fût-il, — et qui ne présentent de lésions importantes que si la dose injectée est considérable, — contaminer leurs enfants, et ceux-ci faire une tuberculose rapidement évolutive (338, 626, 1007, 1032).

Ce qui est plus surprenant encore, c'est de voir des cas de tuberculose se produire chez des lapins dont les parents n'ont pas, à l'autopsie, présenté de lésions tuberculeuses décélables, mais dont les grands-parents, cas du 1007, ou les arrière-grands-parents, cas du 1032, avec lesquels d'ailleurs ils n'ont jamais été en contact, étaient morts de tuberculose pulmonaire.

On est bien obligé d'admettre, si les parents n'avaient pas de lésions visibles, qu'ils ont fait au cours de leur existence un épisode tuberculeux méconnu et dont il ne restait pas trace à

leur mort, car le bacille isolé chez ces animaux tuberculeux a été identifié et présentait les mêmes caractères de virulence que celui provenant des ascendants éloignés.

Les cas où les parents m'ont paru sains sont assez rares, mais ceux-ci présentaient plus souvent des lésions si minimes (421, 458, 459, 576) qu'il est difficile de comprendre comment les petits ont pu être infectés, parfois même si gravement.

Deux raisons pourraient être invoquées pour expliquer ces faits :

1° *L'infection dès la naissance*, puisqu'il est admis que le lapin est d'autant plus sensible au bacille tuberculeux qu'il est plus jeune (1) et qu'ici l'infection a pu se produire dès le premier jour

2° *L'exaltation de la virulence du bacille vis-à-vis de la famille qui l'héberge depuis plusieurs années.*

Dans une famille où se sont produits 3 cas (626, 1007 et 1032) de tuberculose par contamination naturelle, j'ai essayé de préciser ce point; or, le bacille cultivé sur Pétroff, isolé du poumon du 1032, ayant passé plus de six ans sur ce terrain familial, ne s'est pas montré plus virulent pour trois animaux de cette famille que pour les trois témoins. Il faut donc admettre que ces faits s'expliquent difficilement, et se contenter de signaler leur existence et leur réelle fréquence, fréquence plus grande encore que celle qui apparaît dans ce mémoire, car, presque tous mes animaux ayant été utilisés pour des expériences diverses, ce n'est que sur un nombre relativement restreint de lapins que j'ai laissé survivre, sans les infecter, que j'ai pu observer ces 19 cas de tuberculose.

## II. — LA TUBERCULOSE PAR CONTAMINATION NATURELLE CHEZ LES LAPINS ISSUS DE FAMILLES SAINES.

J'ai conservé à l'hôpital Laennec, pendant plusieurs années, quatre femelles que j'utilisais pour la reproduction et qui vivaient chacune dans un box de 1 mètre de longueur sur 1 mètre de largeur, avec cloison de 1 m. 50 de hauteur. Aucune cage d'animaux infectés ne se trouvait à moins de quelques

1. COBBETT. *The causis of tuberculosis*, Cambridge, 1917.



mètres de ces box parfaitement isolés. Ces femelles se sont maintenues en bonne santé jusqu'au jour où je les ai fait couvrir par un animal tuberculeux, le 200, lapin infecté depuis longtemps déjà par injection intraveineuse de bacilles tuberculeux, souche très virulente, dite « bovine Vallée ». L'intérêt de cette expérience réside dans le fait suivant : le mâle n'a été laissé au contact de chaque femelle que durant quelques minutes. A vingt-quatre heures d'intervalle, il fut placé au contact de la femelle 172, puis 165 *bis*, 165 *ter* et enfin 100 *bis*. Dans les mois qui suivirent, les femelles furent de nouveau couvertes par des mâles sains, pour assurer la reproduction. Le 10 avril 1923, le 172, lapine née en janvier 1921, présentait une dyspnée progressive. Sacrifiée *in extremis*, elle présentait des masses caséeuses énormes dans les deux poumons et quelques granulations rénales.

Le 10 novembre 1923, le 165 *ter*, lapine née en 1920 et qui semblait maigrir depuis un mois environ, présenta également de la dyspnée et mourut asphyxique. A l'autopsie, on découvrit, comme chez le 172, des lésions confluentes caséeuses pulmonaires, sans lésion rénale.

Le 22 décembre 1923, le 165 *bis*, sœur du lapin précédent, mourait après une période d'asphyxie de huit jours. Il présentait les mêmes lésions confluentes caséeuses des deux poumons et deux ou trois tubercules du rein.

Des quatre animaux qui avaient été couverts par le 200, le 9 juin 1922, le 100 *bis* survivait seul. Je le sacrifiai le 20 mars 1924; j'eus la surprise de ne pas trouver de lésions pulmonaires nettes. Ce fait peut d'ailleurs s'expliquer, si l'on songe qu'il s'agissait d'une femelle, née en 1919, donc âgée de plus de cinq ans, et, de ce fait, particulièrement résistante à l'infection tuberculeuse. A la face postérieure des deux bases existait un pointillé noir d'antracose pulmonaire, certains placards ayant jusqu'à 2 millimètres de diamètre. Sur le rein droit, je trouvai une cicatrice déprimée, comme en en voit toujours dans les cas de tuberculose rénale à tendance scléreuse. Au niveau de la cicatrice existait, d'ailleurs, une adhérence entre le foie et le rein. L'examen histologique du rein me fit constater à ce niveau, dans les régions sous-jacentes à la cicatrice, une lésion tuberculeuse en activité, caractérisée presque uniquement par une

agglomération de cellules épithélioïdes, dans lesquelles il était facile de mettre en évidence quelques bacilles (planche III, fig. 10).

Dans un autre cas, lapin 142, il s'agissait d'une femelle vivant au contact du lapin 141; cet animal avait été infecté par un bacille humain virulent, souche AY du Dr Kuss, et présentait une tuberculose testiculaire droite. Quand le 142 fut sacrifié, on découvrit au niveau de son poumon un tubercule tout à fait caractéristique (planche III, fig. 11). Ici, malgré la tuberculose du testicule du 141, on ne peut affirmer qu'il s'agit d'une contamination par voie génitale; en effet, le 141 présentait quelques lésions pulmonaires extrêmement discrètes et, d'autre part, il était au contact du 142 depuis près d'une année.

Dans un dernier cas enfin, celui du lapin 377, il s'agissait également d'une femelle mise au contact d'un mâle tuberculeux pendant une période de quinze jours. Les lésions tuberculeuses étaient d'ailleurs extrêmement discrètes : quand elle fut sacrifiée, on trouva quelques fines granulations sur ses poumons.

En somme, 6 lapins de famille saine ont contracté la tuberculose pour avoir cohabité avec un animal tuberculeux.

Un fait qui frappe immédiatement, c'est qu'il s'agit de 6 femelles. Pour 2 d'entre elles, la cohabitation a été assez longue. Le 142 est demeuré pendant des mois auprès du 141; quant au 377, il était resté quinze jours au contact d'un mâle tuberculeux; aussi, chez ces 2 lapins, le mode de contamination demeure-t-il hypothétique, et on ne sait vraiment pas quelle peut avoir été la porte d'entrée des bacilles. Un heureux hasard a permis dans les 4 autres cas de préciser le mécanisme de la contagion.

Pour les 172, 165 *bis*, 165 *ter* et 100 *bis*, il s'agit de contamination par les voies génitales; le mâle tuberculeux n'a séjourné que quelques minutes dans le box des femelles, et dès que le coït fécondant eut été pratiqué il a été reporté dans sa cage. On s'explique d'ailleurs mieux ce mode de contagion quand on sait qu'à l'autopsie du 200 M, qui avait couvert les quatre femelles, on a découvert des lésions tuberculeuses du testicule. On conçoit mieux alors la tuberculose du n° 377, car c'est au contact du même mâle 200 que cette femelle avait été placée

pendant quinze jours. Quant au 142 F, il vivait, nous l'avons dit, au contact du 141 et ce mâle présentait depuis plusieurs mois un testicule très volumineux, bosselé, entièrement caséux.

Les 6 cas semblent donc relever d'une infection génitale.

Pour mieux comprendre le mécanisme de cette infection, il est nécessaire de connaître les particularités du rythme vaginal chez la lapine. Dès que le coït fécondant s'est accompli, l'épithélium vaginal, qui pendant la période du rut était devenu pavimenteux, stratifié, desquame aussitôt, et une couche de cellules cylindriques muqueuses se développe aux dépens de la couche profonde. En même temps se produit « une invasion de leucocytes polynucléaires qui pénètrent, par le tissu congestif lâche et dilaté du chorion, dans le protoplasme des cellules cylindriques muqueuses et qui finissent par tomber dans la lumière vaginale avec la sécrétion » (1).

Il est probable que les bacilles déposés dans le vagin sont phagocytés par ces polynucléaires qui affluent vers la lumière du canal vaginal et qu'un certain nombre de ceux-ci sont alors entraînés dans la circulation générale.

J'ai essayé de réaliser cette infection vaginale en déposant dans le vagin de 3 lapines une goutte d'émulsion de bacilles virulents et en faisant ensuite couvrir ces femelles par un mâle sain. Dans le premier cas l'animal, sacrifié au bout de trois mois, ne présentait aucune lésion tuberculeuse, mais les deux autres, sacrifiées dix-huit mois et deux ans après l'infection, présentaient plusieurs tubercules pulmonaires.

Je ne pense pas que tous les cas de contagion observés chez les lapins adultes appartenant à des familles indemnes de tuberculose relèvent toujours de ce mécanisme. Si dans les 6 cas que je viens de relater il s'agit de 6 femelles, il ne faut pas oublier que, dans les élevages de laboratoires, celles-ci, pour assurer la reproduction, sont conservées assez longtemps sans être inoculées, ce qui n'est pas souvent le cas des mâles. Mais la tuberculose doit pouvoir également se produire chez ces derniers. Tels qu'ils se présentent, les faits que je viens de signaler me paraissent en eux-mêmes présenter un assez vif intérêt.

(1) TSU : Le rythme vaginal chez la lapine et ses relations avec le cycle œstrien de l'ovaire, *Th. de Strasbourg*, 1924.

\*  
\*  
\*

J'ai donc observé 25 cas de tuberculose par contamination naturelle chez le lapin. Ces cas, au point de vue anatomo-pathologique, ont affecté deux formes bien distinctes :

1° Une forme *évolutive*, avec masses caséeuses importantes, présentant souvent une limite interlobaire (fig. 2, 3); dans ces masses caséeuses existaient souvent des cavernes, et des nodules de tuberculose broncho-pneumonique se rencontraient au pourtour des masses caséeuses. J'ai observé ces formes évolutives caséeuses dans 14 cas.

2° Une forme *torpide*.

Cette forme, beaucoup moins bien connue, me paraît présenter un intérêt plus considérable. Elle se caractérise en général par l'existence d'un ou de plusieurs petits tubercules pulmonaires. Quand il n'existe qu'un seul tubercule, il siège presque toujours dans le lobe inférieur et sur la face postérieure des poumons. Il présente un diamètre d'environ 1 à 2 millimètres et l'examen histologique montre ce tubercule constitué au centre par un amas de cellules géantes et de cellules épithélioïdes (142); parfois le centre est caséeux (333). Autour du tubercule existe la couronne classique de lymphocytes. Ce tubercule semble très bien limité et c'est ce qui me paraît caractériser le mieux cette lésion unique, non évolutive, du poumon. Il semble qu'au contact immédiat du tubercule les alvéoles soient parfaitement sains.

Quand il existe un certain nombre de tubercules, ils sont souvent de diamètre un peu plus petit et ce qui frappe, c'est de voir qu'on ne retrouve que péniblement, dans deux ou trois de ces follicules, la structure classique tuberculeuse (439). Dans un certain nombre d'autres cas, on ne rencontre que des amas lymphocytaires qui sont découverts en plein parenchyme. Ils ne sont pas juxta-bronchiques comme les nodules lymphoïdes normaux du poumon du lapin. Quand ces petits tubercules ne comprennent que des cellules lymphoïdes, j'ai dû renoncer à considérer les animaux comme atteints de tuberculose, à moins que, par un hasard heureux, je n'aie découvert des lésions tuberculeuses du rein. Les lésions tuberculeuses du



rein chez le lapin sont toujours en effet très caractéristiques.

Il s'agit, soit de tubercules discrets, en partie scléreux, de la corticale rénale, soit, quand la tuberculose rénale a évolué vers la guérison, une distension kystique des *tubuli contorti* (459), distension plus apparente que réelle, car elle paraît d'autant plus importante que les cellules des *tubuli* sont aplaties contre la paroi, laissant une lumière béante. On trouve toujours aisément l'explication de cette distension des *tubuli*. Il existe, au-dessous du segment atteint, une zone scléreuse dans laquelle, parfois, on peut mettre en évidence des lésions tuberculeuses spécifiques non encore éteintes (459).

Il m'est impossible de ne pas mentionner dans ce travail d'autres animaux chez lesquels, à l'autopsie, je n'ai pu faire la preuve de la tuberculose. Je viens de faire allusion à ces faits. Ce sont des lapins présentant souvent de l'anthraxose chez lesquels j'ai découvert des follicules pulmonaires ne comportant que des lymphocytes, avec parfois quelques leucocytes au centre, mais ne présentant jamais la structure classique du follicule tuberculeux.

J'ai rencontré plus de 25 de ces cas, dont la plupart seraient à ranger sans doute dans la tuberculose pulmonaire; en effet, j'ai vu voisiner ces lésions, chez d'autres animaux, avec des lésions nettement tuberculeuses. En outre, en étudiant la régression des tubercules chez les lapins infectés avec des doses massives de BCG, j'ai souvent observé des figures analogues (planche III, fig. 12). Ne pouvant obtenir une certitude, j'ai dû me résigner à ne pas utiliser ces observations.

Je me suis demandé pour quelles raisons la tuberculose du lapin affecte si souvent une forme torpide. Ici, la virulence de la souche de bacille ne joue aucun rôle; j'ai vu ces formes torpides chez des animaux qui avaient contracté la tuberculose auprès de lapins infestés avec la bovine Vallée, souche extrêmement virulente pour le lapin. Ce n'est pas non plus la durée du contact avec l'animal tuberculeux qui semble jouer un rôle important puisqu'un contact de quelques minutes dans les cas de coït infectant suffit à déterminer une tuberculose mortelle. Il me semble impossible actuellement de proposer une explication raisonnable de ces faits.

Dans les formes torpides, la réaction tuberculinique ne m'a

jamais donné autant de résultats positifs. J'avais déjà noté, dans un précédent travail, l'absence de réactions tuberculiniques chez les lapins atteints de tuberculose à évolution très lente (1).

Le mode de contagion, comme nous l'avons vu, n'est pas toujours facile à mettre en évidence. J'ai pu établir qu'il existe des cas de contamination par ingestion, qu'il en existe d'autres qui sont la conséquence du coït. D'autres modes de contagion seront peut-être révélés. Mais ici, nous pénétrons dans le domaine des hypothèses, domaine qui s'exploite si souvent suivant les désirs de chacun.

\*  
\* \*

En résumé, la tuberculose, par contamination naturelle, s'observe chez le lapin avec une assez grande fréquence, mais elle demeure souvent longtemps latente et doit même guérir quelquefois. J'ai déjà insisté sur ces faits dans une publication antérieure (2).

Cette fréquence des contaminations avait d'ailleurs été notée par Rothe (3) qui insistait sur la facilité avec laquelle se contaminent les lapins placés au contact d'un animal tuberculeux. La connaissance des tuberculoses torpides, sur lesquelles je viens d'attirer l'attention, me paraît donner beaucoup plus d'ampleur au problème. *L'animal qui ne réagit pas à la tuberculine peut être tuberculeux.*

Somme toute, au point de vue pratique, tous les lapins nés et ayant longtemps vécu dans un chenil où l'on étudie la tuberculose expérimentale doivent être éliminés des expériences. Ils sont suspects de tuberculose. Les animaux utilisés pour ces recherches ne devraient pénétrer dans le chenil que le jour de l'inoculation et provenir d'un élevage d'animaux sains, rigoureusement protégés contre tout contact, même momentané, avec un animal tuberculeux. Au cours de l'expérience et pen-

(1) E. COULAUD, Absence de réactions tuberculiniques au cours de la tuberculose du lapin. *C. R. Soc. de Biol.*, **12**, n° 1, p. 24.

(2) E. COULAUD, La tuberculose par contamination naturelle chez le lapin. *Ces Annales*, **38**, juillet 1924, p. 581.

(3) ROTHE, Etude sur la tuberculose spontanée du lapin. *Deuts. med. Woch.*, 4 avril 1912, p. 643 et *Veröffentlichungen der Robert Koch-Stiftung*, fasc. 4, 1913.

dant toute sa durée il est nécessaire de les tenir parfaitement isolés.

J'estime que l'ignorance de la sensibilité du lapin à l'infection tuberculeuse naturelle a conduit beaucoup de chercheurs à des conclusions erronées. Tout lapin mort de tuberculose ne succombe pas fatalement à l'infection expérimentale, celle-ci peut n'avoir déterminé aucune lésion et l'observateur peut alors considérer la tuberculose acquise ultérieurement comme le résultat de son acte expérimental.

# **SUR L'IMMUNISATION ANTITOXIQUE ACTIVE ET SUR LA PRODUCTION INTENSIVE DE L'ANTITOXINE TÉTANIQUE CHEZ LE CHEVAL**

par G. RAMON, P. DESCOMBEY (1) et E. LEMÉTAYER

Depuis 1923 (2), certains principes ont été mis en évidence par l'un de nous dans le domaine de l'immunité antitoxique : par exemple le principe des anatoxines, celui de l'augmentation de la production de l'antitoxine sous l'influence de l'adjonction à l'antigène d'une substance non spécifique telle que la poudre de tapioca, celui encore de l'intervalle de temps entre les injections d'antigène, etc... Ces principes, nous les avons successivement appliqués, durant ces dernières années, à l'immunisation active des animaux domestiques vis-à-vis du tétanos et à la préparation du sérum antitétanique; dans des recherches récentes, nous les avons développés et finalement, dans un dernier essai, nous les avons mis en pratique simultanément. Ce sont ces recherches et leurs résultats que nous exposerons ici.

## **I. — De l'aptitude à la production de l'antitoxine tétanique des chevaux antérieurement vaccinés contre le tétanos.**

Il a été largement tenu compte, dans l'établissement des méthodes de vaccination par les anatoxines diphtérique et tétanique, du principe d'après lequel deux doses d'antigène même faibles, injectées à intervalle de temps très long, valent mieux au point de vue de l'immunité antitoxique conférée que plusieurs doses plus fortes injectées à intervalles rapprochés (3).

(1) Nous avons tenu à ce que figure ici le nom de notre regretté collègue et ami P. DESCOMBEY qui, durant huit années, s'est consacré, avec sa grande puissance de travail, à l'étude du tétanos et en particulier de l'immunisation antitétanique chez le cheval.

(2) G. RAMON, *C. R. Académie des Sciences*, **177**, 1923, p. 1338.

(3) G. RAMON, *Ces Annales*, **38**, 1924, p. 1. G. RAMON et ZOELLER, **182**, 1926, p. 245.



De plus, nous avons indiqué que le cheval qui a été vacciné contre le tétanos, à l'aide de deux ou trois injections d'anatoxine tétanique, acquiert de ce fait une aptitude particulière à tirer parti de l'antigène spécifique qui lui est injecté de longs mois après la vaccination (1). Nous venons de constater, une fois de plus, l'importance de ces données au cours d'essais que nous allons rapporter.

Sur l'initiative et par les soins du Service Vétérinaire de l'Armée, un lot comprenant près de 30.000 chevaux a été soumis, en novembre-décembre 1929, à titre d'essai, à la vaccination contre le tétanos au moyen du procédé courant : deux injections d'anatoxine tétanique au tapioca, de chacune 10 cent. cubes, effectuées à un mois d'intervalle. En octobre 1930, une centaine de chevaux sont pris dans ce lot. Une saignée d'épreuve leur est faite, et un dosage d'antitoxine tétanique permet de se rendre compte qu'un centimètre cube de leur sérum contient en moyenne 1/1.000 d'unité (internationale) et est capable de neutraliser une quantité de toxine correspondant à une ou plusieurs doses mortelles (pour le cobaye) au moins, ce qui, comme l'a montré l'un de nous (P. Descombey), est bien suffisant pour mettre le cheval immunisé à l'abri de la toxi-infection tétanique mortelle pour un cheval non vacciné. Ces animaux reçoivent ensuite, en novembre 1930, c'est-à-dire un an après la vaccination anti-tétanique, une nouvelle injection, dite de rappel, de 10 cent. cubes d'anatoxine tétanique (titrant 8 unités anatoxiques) additionnée de tapioca.

Nous donnons ci-dessous la valeur en unités antitoxiques (internationales) d'un certain nombre de sérums recueillis quinze jours après l'injection de rappel.

NUMÉRO des chevaux	TITRE ANTITOXIQUE des sérums en unités internationales
—	—
322. . . . .	+ 6
323. . . . .	+ 2
324. . . . .	+ 6
325. . . . .	+ 6
326. . . . .	+ 2

(1) G. RAMON et P. DESCOMBEY, *Ces Annales*, 41, 1927, p. 834; *C. R. Soc. de Biologie*, 103, 1930, p. 1202. G. RAMON et Ch. ZOELLER, *Ces Annales*, 41, 1927, p. 83; *C. R. Soc. de Biologie*, 100, 1929, p. 92

NUMÉRO des chevaux	TITRE ANTITOXIQUE des sérums en unités internationales
327 . . . . .	+ 6
328 . . . . .	+ 2
329 . . . . .	+ 20
330 . . . . .	+ 20
331 . . . . .	+ 20
332 . . . . .	+ 20
333 . . . . .	+ 20 (1)

Ainsi, d'après ces résultats pris comme exemples parmi de nombreux autres de même ordre, l'immunité antitoxique est considérablement augmentée chez les chevaux vaccinés contre le tétanos qui reçoivent un an après cette vaccination une seule dose d'anatoxine; elle passe en effet, en quelques jours, de 1/4.000 d'unité à 2, à 20 unités et plus, elle se trouve donc multipliée deux mille fois, vingt mille fois...

Chez une quinzaine de ces chevaux, qui ont reçu une injection de rappel en novembre 1930, nous avons continué les injections d'anatoxine; nous leur avons injecté successivement 50 et 100 cent. cubes d'anatoxine additionnée de tapioca, à six jours d'intervalle. Voici le titre antitoxique atteint par les sérums de ces 15 chevaux, sept jours après la dernière injection, soit trois semaines après l'injection de 10 cent. cubes dite de rappel.

NUMÉRO des chevaux	TITRE ANTITOXIQUE des sérums en unités internationales
303 . . . . .	+ 400
304 . . . . .	+ 200
305 . . . . .	+ 240
307 . . . . .	+ 150
308 . . . . .	+ 80
309 . . . . .	+ 240
310 . . . . .	+ 200
311 . . . . .	+ 150
312 . . . . .	+ 60
313 . . . . .	+ 150
316 . . . . .	+ 1.000
317 . . . . .	+ 200
318 . . . . .	+ 300
319 . . . . .	+ 500
321 . . . . .	+ 1.000

(1) A titre de comparaison nous rappellerons, ici, que les sérums de chevaux neufs qui ont reçu, pour la première fois, une injection de 10 cent. cubes d'anatoxine ne contiennent, quinze jours après cette injection, que des traces à peine appréciables d'antitoxine.

Soit en moyenne 300 unités internationales (ou 150 unités U. S.). Chez des chevaux neufs, l'injection des mêmes quantités d'anatoxine tétanique entraîne une production d'antitoxine bien plus faible, les sérums titrant, en général, moins de 20 unités au centimètre cube. Ainsi, se manifeste d'une façon extrêmement saisissante l'aptitude à la production de l'antitoxine tétanique des animaux antérieurement vaccinés contre le tétanos.

De ces essais et de leurs résultats, nous pouvons tout d'abord dégager rapidement certaines considérations théoriques.

Faisons-le remarquer, le cheval, dans les conditions naturelles, est un animal rigoureusement « neuf » en ce qui concerne l'immunité antitétanique se traduisant par la présence de l'antitoxine spécifique dans son sérum sanguin. Malgré de multiples recherches antérieurement effectuées, au moyen de procédés créés pour les besoins de ces recherches (1), il n'a pu être décelé trace d'antitoxine tétanique dans le sang du cheval normal. La vaccination par l'anatoxine apporte à cet animal l'immunité antitoxique qu'il ne sait acquérir naturellement malgré — et ceci a son importance au point de vue doctrinal — la présence dans son intestin de nombreuses spores ou autres formes du germe de Nicolaïer-Kitasato. En même temps que le cheval acquiert ainsi artificiellement l'immunité grâce à l'anatoxine, il acquiert aussi, nous venons de le vérifier une fois de plus dans nos essais, l'aptitude à tirer un parti de plus en plus grand, pour le perfectionnement de cette immunité, de l'antigène spécifique qui lui est offert à nouveau, par la suite.

En dehors de ces déductions, nous tirerons maintenant des résultats que nous avons apportés dans ce chapitre certaines conséquences d'ordre essentiellement pratique.

En premier lieu, l'accroissement de l'immunité antitétanique sous l'influence d'une seule injection de « rappel » est si considérable qu'il est tout indiqué dans la pratique de l'immunisation active du cheval d'effectuer cette injection une fois

(1) C'est ainsi qu'une quantité d'antitoxine correspondant à 1/20.000 d'unité antitoxique, et même moins, peut être mise en évidence avec la technique décrite par l'un de nous et basée sur la neutralisation de la dose de toxine tétanique capable de faire apparaître, chez le cobaye ou la souris, un tétanos local, non mortel (G. RAMON, *C. R. Soc. de Biologie*, 99, 1928, p. 1474).

pour toutes, un an par exemple, après les deux injections requises pour la vaccination courante; les animaux seront ainsi des plus solidement immunisés pour une période dont l'avenir nous fera connaître la limite.

En second lieu, les chevaux vaccinés contre le tétanos montrent une aptitude si remarquable à s'hyperimmuniser par la suite, qu'ils sont tout désignés pour la production intensive de l'antitoxine tétanique et, par conséquent, pour la préparation rapide et économique d'un sérum antitétanique de valeur très élevée.

## II. — De l'augmentation de production de l'antitoxine tétanique par addition à l'antigène de substances non spécifiques.

Grâce aux observations faites chez les animaux producteurs de sérum antitoxique, il a été établi, en 1925 (1), que l'adjonction à l'antigène tétanique (toxine ou anatoxine) d'une substance non spécifique, telle que la poudre de tapioca, par exemple, permet d'augmenter dans de fortes proportions la production de l'antitoxine tétanique; dès cette époque, le mécanisme de cette augmentation était envisagé; le rôle du tapioca favorisant l'inflammation locale, la leucocytose ainsi que la résorption lente et l'élimination moins rapide de l'antigène étaient mises en évidence. Ainsi qu'il a été montré, le tapioca n'augmente pas la valeur intrinsèque de l'antigène, il permet à l'organisme de tirer un meilleur parti de cet antigène pour le développement de l'immunité et la production de l'antitoxine.

Cette influence favorable de l'addition à l'antigène d'une substance non spécifique, telle que la poudre de tapioca, a été confirmée par nombre d'auteurs (S. Schmidt, Condrea, Feierabend, etc...).

A la suite de ces recherches, divers expérimentateurs ont tenté d'obtenir le même effet que le tapioca avec d'autres substances en utilisant, par exemple, un sel tel que l'alun de potasse capable de produire un précipité plus ou moins inso-

(1) G. RAMON, *C. R. Académie des Sciences*, 181, 1925, p. 157. Ces *Annales*, 40, 1926, p. 1. G. RAMON et P. DESCOMBES, *Soc. de Biologie*, 93, 1925, p. 508 et 898.



luble lorsqu'il est ajouté à l'antigène (Glenny et ses collaborateurs) (1). A vrai dire, l'idée de ces précipités « insolubles » n'est pas de date récente puisque E. Roux et Yersin, dès 1889 (2), cherchent à réaliser l'immunité antidiphtérique, chez l'animal d'expériences, au moyen du précipité obtenu en faisant agir, sur la toxine diphtérique qu'ils viennent de découvrir, le chlorure de calcium par exemple : « Si la matière toxique adhérerait assez au corps insoluble, écrivent nos éminents devanciers, elle ne diffuserait que lentement et ainsi se produirait peut-être l'accoutumance graduelle de l'animal. »

Dans les essais que nous allons rapporter, nous avons employé concurremment, dans la vaccination antitétanique du cheval, l'anatoxine seule, ou additionnée de tapioca, ou précipitée soit au moyen d'alun de potasse, soit à l'aide de chlorure de calcium (3).

Quatre lots comprenant chacun 5 chevaux neufs (non vaccinés contre le tétanos) sont constitués. Les animaux du 1<sup>er</sup> lot reçoivent à quatre semaines d'intervalle 2 doses de 10 cent. cubes chacune d'anatoxine tétanique (8 unités anatoxiques au centimètre cube) ; ceux du 2<sup>e</sup> lot, les mêmes doses de la même anatoxine à laquelle on a ajouté au préalable 1 p. 100 de poudre de tapioca. Pour les animaux du 3<sup>e</sup> lot, l'anatoxine est utilisée dans les mêmes conditions après avoir été additionnée d'une quantité d'alun de potasse suffisante, 1 gr. p. 100 cent. cubes d'antigène, pour provoquer l'apparition d'un précipité abondant. Pour les chevaux du 4<sup>e</sup> lot, on a substitué à l'alun la même proportion de chlorure de calcium. Huit jours après la seconde injection d'antigène, tous les chevaux sont saignés. Le dosage de l'antitoxine tétanique dans leur sérum fournit les résultats suivants :

NUMÉRO des chevaux	TITRE ANTITOXIQUE des sérums en unités internationales
Premier lot (anatoxine seule) :	
356 . . . . .	0,003
357 . . . . .	0,002
358 . . . . .	0,01
359 . . . . .	0,005
361 . . . . .	0,005
Moyenne : 0,005.	

(1) *The Journal of Pathol. a. Bacter.*, 29, 1926, p. 32; 31, 1928, p. 413 et *British Med. Journal*, n° 3632, 1930, p. 214.  
(2) E. ROUX et YERSIN, *Ces Annales*, 1889.  
(3) G. RAMON et E. LEMÉTAYER, *C. R. Soc. de Biologie*, 106, 1931, p. 23 et 73.

NUMÉRO des chevaux	TITRE ANTITOXIQUE des sérums en unités internationales
<i>Deuxième lot (anatoxine + tapioca) :</i>	
387 . . . . .	0,3
388 . . . . .	0,1
389 . . . . .	0,01
390 . . . . .	2
391 . . . . .	2
Moyenne : 0,88.	
<i>Troisième lot (anatoxine + alun) :</i>	
362 . . . . .	0,05
364 . . . . .	1
366 . . . . .	0,05
367 . . . . .	0,03
369 . . . . .	0,1
Moyenne : 0,24.	
<i>Quatrième lot (anatoxine + chlorure de calcium) :</i>	
373 . . . . .	0,5
374 . . . . .	0,03
375 . . . . .	0,5
381 . . . . .	0,5
386 . . . . .	0,03
Moyenne : 0,30.	

Ainsi, d'après ces résultats, l'effet stimulant du tapioca sur l'organisme animal est tel que les chevaux, qui reçoivent, dans les conditions de nos essais, l'anatoxine + tapioca, acquièrent une immunité atteignant une valeur 150 fois plus grande que ceux injectés dans les mêmes conditions avec l'anatoxine seule.

En comparant, en outre, les moyennes établies ci-dessus, on constate que l'addition de tapioca a une action nettement supérieure à celle du chlorure de calcium et surtout de l'alun.

A l'occasion de ces essais et d'autres du même genre, que nous avons effectués et que nous exposerons dans le chapitre suivant, M. Soituz a étudié, sous nos yeux, le mécanisme intime de l'augmentation de l'immunité sous l'influence de l'addition à l'antigène de substances non spécifiques. Il a pu se rendre compte que ces substances — tapioca, alun, chlorure de calcium — produisent toutes, chez le cheval, de l'hyperleucocytose, cette hyperleucocytose étant plus marquée avec le tapioca. De plus, il a pu constater que la production d'antitoxine est particulièrement intense lorsque l'hyperleucocytose atteint son niveau le plus élevé; cette question de la relation

entre l'hyperleucocytose et la production accrue d'antitoxine (1) appelle de nouvelles recherches qui sont d'ailleurs en cours.

De ces essais et de leurs résultats, nous ne retiendrons au point de vue pratique que la confirmation de l'action stimulante remarquable que certaines substances non spécifiques — en particulier le tapioca — ajoutées à l'antigène, exercent sur le développement de l'immunité antitoxique.

### III. — Méthodes de production intensive de l'antitoxine tétanique.

Au cours de ces dernières années, nous avons cherché à améliorer la préparation du sérum antitétanique chez le cheval en mettant successivement en pratique les divers principes que nous révélaient peu à peu l'observation et l'expérimentation.

Nous indiquerons, ici, les dernières étapes de ces recherches.

On sait que dans tous les laboratoires de production des sérums thérapeutiques on réalise la prophylaxie indispensable du tétanos chez les chevaux par des injections périodiquement répétées de sérum antitétanique. A cette pratique, nous avons substitué, depuis plusieurs années déjà, celle de l'immunisation active par l'anatoxine tétanique (2). Lorsque, par exemple, des chevaux doivent être soumis à l'hyperimmunisation antidiphtérique, nous leur injectons en même temps que la première dose d'anatoxine diphtérique une dose de 10 cent. cubes d'anatoxine tétanique additionnée de tapioca. L'immunisation antidiphtérique est régulièrement poursuivie et, un mois après le début de ces opérations, nous injectons une deuxième dose de 10 cent. cubes d'anatoxine tétanique au tapioca. Les chevaux, qui à la première saignée ou par la suite se montrent mauvais donneurs d'antitoxine diphtérique, sont écartés de la production du sérum antidiphtérique et sont alors affectés à la préparation du sérum antitétanique. Ces chevaux n'ont, en effet, rien perdu du bénéfice des deux injections d'anatoxine tétanique qu'ils ont reçues; bien plus,

(1) On se rappelle la théorie de E. Metchnikoff à ce sujet.

(2) Voir G. RAMON et P. DESCOMBEY, *C. R. Soc. de Biologie*, 103, 1930, p. 1202.

nous l'avons vu plus haut, ils ont acquis une aptitude particulière à réagir aux injections de l'antigène du bacille tétanique; ils sont devenus beaucoup plus capables, que des chevaux neufs, de produire l'antitoxine tétanique. C'est ce que montre avec une évidente netteté l'essai comparatif suivant.

Le 23 mai 1929, on met 12 chevaux en hyperimmunisation antitétanique : 6 d'entre eux sont des chevaux neufs, les 6 autres sont d'anciens producteurs d'antitoxine diphtérique, antérieurement vaccinés contre le tétanos. Tous reçoivent, à intervalle de cinq jours, les doses suivantes d'antigènes : 1° anatoxine et tapioca : 50, 75, 100, 150, 200, 250 cent. cubes; puis 2° toxine et tapioca : 200, 250, 300, 350, 450, 550 cent. cubes.

A la première saignée, faite soixante-cinq jours après le début de la période d'hyperimmunisation, le titrage des sérums des animaux ainsi traités fournit les résultats suivants exprimés en unités internationales :

NUMÉRO des chevaux	TITRE ANTITOXIQUE des sérums en unités internationales
<i>Chevaux neufs :</i>	
139 . . . . .	+ 500
140 . . . . .	+ 600
141 . . . . .	+ 600
142 . . . . .	+ 600
143 . . . . .	+ 600
144 . . . . .	+ 600
<i>Chevaux antérieurement vaccinés :</i>	
145 . . . . .	+ 1.600
146 . . . . .	+ 1.600
147 . . . . .	+ 1.600
148 . . . . .	+ 1.600
149 . . . . .	+ 1.200
150 . . . . .	+ 2.400

Cet essai renouvelé nombre de fois, avec des résultats analogues, prouve à l'évidence que, contrairement à la théorie de la « concurrence des antigènes » des auteurs allemands, un organisme est bien capable de faire les frais de deux immunisations simultanées ou successives, ce qui est d'ailleurs vérifié par l'utilisation maintenant courante chez l'homme de la méthode des « vaccinations associées » que l'un de nous a établie avec



Ch. Zoeller et qui consiste à associer deux ou même plusieurs immunisations par injection du mélange soit de deux anatoxines diphtérique et tétanique, par exemple, soit d'une anatoxine et d'un vaccin microbien tel que le T. A. B.

\*  
\* \*

Dans un essai récent (1) d'hyperimmunisation de chevaux destinés à la production de l'antitoxine tétanique, nous avons mis en œuvre une méthode basée sur l'ensemble des différents principes établis précédemment : immunisation antitoxique active par l'anatoxine, aptitude spéciale à l'hyperimmunisation des animaux antérieurement vaccinés, augmentation du taux de l'antitoxine sous l'influence des injections d'antigène additionné de substances non spécifiques telles que le tapioca, etc...

Vingt-cinq chevaux vaccinés contre le tétanos fin 1929 sont choisis et divisés en 3 lots. Quinze de ces chevaux constituant le 1<sup>er</sup> lot reçoivent, du 30 octobre 1930 au 4 décembre, successivement et à cinq ou six jours d'intervalle, 10, 50, 100 cent. cubes d'anatoxine, puis 200, 250, 350, 450 cent. cubes de toxine tétanique. Chacune de ces doses, sauf la dernière, est additionnée, avant l'injection, de tapioca pulvérisé et stérilisé à raison de 1 gramme p. 100 cent. cubes d'antigène. Le tapioca est remplacé par la même proportion d'alun de potassium pour les 5 chevaux du second lot, et de chlorure de calcium pour le 3<sup>e</sup> lot qui comprend, lui aussi, 5 chevaux.

Pour tous ces animaux l'hyperimmunisation dure, dans ces conditions, trente-cinq jours seulement et la quantité totale d'antigène injecté à chaque cheval est de 1.500 cent. cubes à peine. Cette hyperimmunisation s'est poursuivie sans aucune perte d'animal (2).

(1) Voir G. RAMON, *C. R. Académie des Sciences*, 191, 1930, p. 1393.

(2) Signalons que les réactions, en particulier les réactions locales, ont été très accentuées chez les animaux recevant l'antigène à l'alun : très gros œdèmes aux endroits d'injection formant des placards très étendus qui gênent fort la locomotion, etc... Ces réactions ont été moins sévères avec l'antigène au tapioca, moins sévères encore avec l'anatoxine additionnée de chlorure de calcium. Il ne saurait être question d'employer, tels quels, ces procédés chez l'homme. Il a été néanmoins tiré parti de ce principe de l'accroissement de l'immunité antitoxique par addition de diverses substances à l'antigène dans l'établissement de la méthode des « vaccinations associées ».

La première saignée pour la récolte du sérum est faite huit jours après la dernière injection d'antigène. Le dosage de l'antitoxine tétanique dans les sérums ainsi recueillis a fourni les résultats suivants :

NUMÉRO des chevaux	TITRE ANTITOXIQUE des sérums en unités internationales
<i>Premier lot (15 chevaux) :</i>	
1 . . . . .	+ 600
2 . . . . .	+ 1.200
3 . . . . .	+ 3.090
4 . . . . .	+ 1.800
5 . . . . .	+ 10.000
6 . . . . .	+ 2.600
7 . . . . .	+ 6.000
8 . . . . .	+ 6.500
9 . . . . .	+ 1.800
10 . . . . .	+ 2.800
11 . . . . .	+ 6.000
12 . . . . .	+ 3.000
13 . . . . .	+ 6.000
14 . . . . .	+ 10.000
15 . . . . .	+ 6.000
<i>Deuxième lot (5 chevaux) :</i>	
16 . . . . .	+ 4.000
17 . . . . .	+ 8.000
18 . . . . .	+ 6.000
19 . . . . .	+ 3.000
20 . . . . .	+ 3.500
<i>Troisième lot (5 chevaux) :</i>	
21 . . . . .	+ 3.000
22 . . . . .	+ 3.500
23 . . . . .	+ 8.000
24 . . . . .	+ 3.500
25 . . . . .	+ 5.000

Le titre antitoxique moyen pour les 25 sérums est de 4.800 unités internationales (ou 2.400 unités U. S.) au centimètre cube.

On remarquera d'abord que la production moyenne d'antitoxine a été sensiblement de même ordre dans les 3 lots. Ceci s'explique par le fait que les chevaux formant ces lots, ayant été antérieurement vaccinés contre le tétanos, se montrent également aptes à la production de l'antitoxine tétanique. De plus, alors qu'au début de l'immunisation les différences dans la façon d'utiliser l'antigène peuvent être considérables, d'animal à animal, il se produit par l'hyperimmunisation une sorte de

nivellement de la production; les animaux, dans chaque lot, finissent par atteindre la limite de leur capacité productrice d'antitoxine, seule diffère la vitesse avec laquelle ils arrivent à cette limite au cours de l'hyperimmunisation.

En regard de ces résultats plaçons, par exemple, ceux acquis en 1924, dans des conditions voisines, mais avec des méthodes toutes différentes. Vingt chevaux neufs, non vaccinés au préalable puisque le procédé de vaccination par l'anatoxine n'était pas encore employé, ont été soumis durant plus de quatre mois à l'hyperimmunisation au moyen de doses croissantes de toxine additionnée de liqueur iodo-iodurée d'abord, puis de toxine pure, représentant au total plus de 3 litres d'antigène. Sur les 20 sérums fournis par ces animaux aussitôt après la période d'hyperimmunisation :

2 titraient . . . . .	350	unités internationales.
1 titrait . . . . .	120	—
3 titraient . . . . .	40	—
14 titraient moins de . . . . .	40	—
soit un titre moyen de moins de 100 unités internationales.		

Citons encore ici, à titre comparatif, les résultats obtenus et publiés récemment par des expérimentateurs qui ont cependant tenu compte, dans une certaine mesure, de quelques-uns des principes que nous avons fait connaître.

La valeur antitoxique moyenne des sérums antitoxiques préparés par S. Schmidt atteint en 1927-1928 près de 1.000 unités (internationales) et la valeur la plus élevée qui ait été obtenue chez un cheval : 4.400 unités (1). Condrea, en utilisant diverses techniques, prépare des sérums dont le titre antitoxique moyen est de 600 unités, et cela, après un temps d'hyperimmunisation beaucoup plus long et des quantités d'antigènes beaucoup plus considérables (2). Glenny dans un article tout récent dit avoir

(1) S. SCHMIDT, Communications de l'Institut sérothérapique de l'Etat danois, 1929 (directeur, professeur Madsen).

(2) L'activité de l'antigène employé qui doit, bien entendu, atteindre le degré le plus élevé possible n'a cependant qu'une influence relative dans nos essais; elle s'efface, en effet, en partie devant les autres facteurs en jeu, en particulier l'aptitude à la production de l'antitoxine des chevaux antérieurement vaccinés contre le tétanos dont le rôle est si important. Ajoutons, d'ailleurs, que les antigènes utilisés par les auteurs cités ci-dessus sont très actifs puisque Condrea, par exemple, met en œuvre des toxines tuant la souris à la dose de 1/200.000, 1/300.000 de centimètre cube (C. R. Soc. de Biologie, 103, 1930, p. 1042).

atteint la moyenne de 1.600 [800 unités U. S.] (1). Savino hyperimmunise 131 chevaux au moyen de 7 litres d'antigène par animal; le pouvoir antitoxique moyen des sérums antitétaniques ainsi obtenus est égal à 257 unités (2).

La comparaison de tous ces chiffres entre eux permet d'estimer les avantages — hyperimmunisation très rapide, absence de risques pour la vie des animaux, quantité relativement faible d'antigène injecté, et surtout production intense d'antitoxine — résultant de la mise en œuvre de la méthode que nous venons de faire connaître et qui réalise en quelque sorte la synthèse des différents principes ou procédés tirés de nos recherches antérieures.

A ces avantages, s'en ajoutent d'ailleurs d'autres qui ont trait à l'utilisation en thérapeutique de ce sérum antitétanique si riche en antitoxique spécifique.

(1) GLENNY, *British Med. Journal*, n° 3632, 1930, p. 244.

(2) SAVINO, *C. R. Soc. de Biologie*, 106, 1931, p. 382.



**ETUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES  
ET PROPHYLACTIQUES DU PALUDISME,  
26°, 27° ET 28° CAMPAGNES EN ALGÉRIE  
EN 1927, 1928 ET 1929 (1)**

par EDM. et ET. SERGENT, L. PARROT,  
H. FOLEY, A. CATANEI et G. SENEVET.

**I. — ÉTUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES**

En 1927, on a assisté à la fin de la période de régression du paludisme, qui se manifestait depuis plusieurs années sur tout le territoire algérien, et, en 1928, à une nouvelle poussée violente du virus, surtout dans l'ouest de l'Algérie. En 1929, l'endémie a recommencé à décroître.

**1° Gîtes à Anophèles.**

**PLUIES.** — Pendant ces trois ans, on a pu noter de nouveau le rapport étroit entre l'abondance des pluies et l'intensité du paludisme, que signalent nos rapports antérieurs. En 1927, année sèche : paludisme bénin en général, sauf dans le département de Constantine, où le printemps est marqué par des pluies tardives répétées. En 1928, année pluvieuse : épidémie très forte, surtout dans le département d'Oran, où les pluies sont d'une abondance exceptionnelle.

**PRÉVISION DES ÉPIDÉMIES.** — Les données du pluviomètre ont permis de prédire, pour chacune des trois années, l'extension et même la gravité de l'épidémie estivale.

En 1927, la sécheresse du printemps, qui n'épargna que le

(1) Voir le rapport précédent. Ces *Annales*, 42, 1928, p. 782-790.

département de Constantine, a permis de prévoir que le paludisme serait bénin en général, sauf dans ce département. C'est ce que les événements confirmèrent.

En 1928, on a pu prévoir, dès le printemps, l'épidémie très grave qui sévit dans le département d'Oran, par suite des pluies très abondantes d'hiver et de printemps et des inondations qui déterminèrent la formation de marais de grande étendue.

En 1929, les prévisions se vérifièrent encore, mais dans une certaine mesure seulement. On était fondé à penser que les réservoirs de virus laissés par l'épidémie étant importants en Oranie, et les gîtes à Anophèles encore étendus, au début des chaleurs, par suite des pluies copieuses de l'hiver et du printemps, le paludisme serait encore fréquent et violent. C'est, en effet, ce qui s'est produit, mais d'une façon moins nette qu'au cours des années précédentes : un grand nombre de localités algériennes n'ont pas présenté la recrudescence de paludisme qu'on attendait pour l'été de 1929.

## 2° Réservoir de virus.

INDEX PALUDIQUE. — Le Service antipaludique a continué d'employer pour ses enquêtes et pour vérifier l'efficacité des procédés de protection qu'il expérimente la méthode de l'*index splénométrique* qui associe dans une même formule les résultats de la recherche de l'index splénique avec les résultats de la mensuration des rates hypertrophiées. La recherche de l'*index plasmodique* a été réservée aux champs de démonstration dont l'étude est poursuivie dans les détails.

## II. — ÉTUDES PROPHYLACTIQUES

Les méthodes de prophylaxie du Service antipaludique ont été appliquées, soit à titre d'expérimentation, soit à titre de démonstration, en 1927, dans 43 localités ; en 1928, dans 60 ; en 1929, dans 50, avec la collaboration des médecins de circonscription du Service des Ponts et Chaussées, des instituteurs et institutrices.

A. — COLLABORATION DES MÉDECINS DE CIRCONSCRIPTION  
AUX EXPÉRIENCES.

38 médecins en 1927, 36 en 1928, 39 en 1929 ont donné leur concours au Service antipaludique, organisé les services de quininisation préventivo-curative des indigènes et surveillé les agents quininisateurs qui effectuent cette quininisation. Ils ont mis au courant de la marche du service, chaque mois, le Service antipaludique par de courts rapports. Le résultat obtenu fut apprécié par la comparaison des index endémiques relevés au début et à la fin de la campagne.

B. — COLLABORATION DU SERVICE DES PONTS ET CHAUSSÉES  
AUX EXPÉRIENCES.

8 localités algériennes ont bénéficié des petites mesures antilarvaires, exécutées à titre expérimental, après entente avec les ingénieurs des circonscriptions, par les agents locaux du Service des Ponts et Chaussées, sur les indications et aux frais du Service antipaludique.

C. — COLLABORATION DES INSTITUTEURS ET INSTITUTRICES  
AUX ESSAIS DE QUININISATION PRÉVENTIVO-CURATIVE.

La quininisation préventivo-curative des écoliers européens et indigènes a été effectuée, dans un certain nombre d'écoles, quotidiennement en mai, juin, octobre et novembre, par les soins des instituteurs et institutrices.

En 1927, 45 instituteurs et institutrices ont ainsi collaboré à ces essais qui, en même temps, avaient un objet d'enseignement de la prophylaxie palustre; en 1928, 40; en 1929, 71.

1° Quininisation préventivo-curative expérimentale.

La méthode préventivo-curative par les petites doses fréquentes (1) a été expérimentée sur : 13.000 personnes environ

(1) 40 centigrammes par jour pour les grandes personnes.

en 1927; 21.000 en 1928; 22.000 en 1929, pendant sept mois sur le littoral, pendant cinq mois sur les Hauts-Plateaux. La quinine était prise devant le quininisateur tous les jours ou tous les deux jours selon les localités. En 1927, cette quininisation préventivo-curative a été effectuée par 47 agents; en 1928, par 61; en 1929, par 56 agents.

La quinine a été distribuée, selon les techniques que nous avons introduites en Algérie, sous forme de dragées de 20 centigrammes de monochlorhydrate de quinine, et, pour les enfants en bas âge, de chocolatinés à 5 centigrammes de monochlorhydrate de quinine.

#### QUININE DISTRIBUÉE :

1° *Dragées*. — En 1927, 240 kilogr. 8 de monochlorhydrate de quinine, en 602 kilogrammes de dragées = 1.204.000 dragées.

En 1928, 258 kilogr. 8 de monochlorhydrate de quinine, en 645 kilogrammes de dragées = 1.290.000 dragées.

En 1929, 232 kilogrammes de monochlorhydrate de quinine, en 580 kilogrammes de dragées = 1.160.000 dragées.

2° *Chocolatinés*. — En 1927, 6 kilogr. 739 de monochlorhydrate de quinine, en 406 kilogrammes de chocolatinés = 135.333 chocolatinés.

En 1928, 6 kilogr. 475 de monochlorhydrate de quinine, en 371 kilogrammes de chocolatinés = 123.543 chocolatinés.

En 1929, 6 kilogr. 660 de monochlorhydrate de quinine, en 400 kilogrammes de chocolatinés = 133.200 chocolatinés.

Pendant chacune des trois années, les agents des chemins de fer algériens du P.-L.-M. ont bénéficié, au nombre d'un millier environ, de la quininisation préventive, sous la haute direction du D<sup>r</sup> Murat, médecin-chef.

Dans plusieurs centres de la Mitidja, des essais de cure préventivo-curative du paludisme ont été poursuivis à l'aide d'autres médicaments que la quinine : *extrait de marrube*, *salicine*, *extrait d'aphloia*, *quinio-stovarsol*, *plasmaquine*.

#### 2° Petites mesures antilarvaires mises à l'essai.

Les diverses petites mesures antilarvaires, si importantes pour l'entretien des grands travaux de dessèchement, ont été mises à l'épreuve en 1927, sur 60 kilomètres de gîtes à anophèles, en 1928 et en 1929 sur 70 kilomètres, à Montebello, Birtouta, Maison-Carrée, Reghaïa, Surcouf et Suffren, dans le



département d'Alger ; Aïn Tedelès, Tourville et Sainte-Léonie dans le département d'Oran ; Taher, Mondovi, Penthievre, Robertville dans celui de Constantine.

Ces travaux ont été exécutés par le Service antipaludique soit seul, soit avec l'aide du Service des Ponts et Chaussées.

**GAMBOUSES.** — La méthode de destruction des larves d'anophèles au moyen des gambouses, poissons acclimatés en Algérie par l'Institut Pasteur en 1926, a été répandue de plus en plus pendant les années 1928 et 1929.

Des viviers ont été créés à l'Institut Pasteur, et de grands parcs d'élevage organisés dans les bassins du Jardin d'Essai. Ces aquariums ont essaimé et l'on peut évaluer à plus de 30.000 le nombre des gambouses qui ont été répandus en Algérie, dans les marais, les oueds, les canaux, les bassins-réservoirs, ou distribués aux communes, à l'armée, aux chemins de fer, aux particuliers et aux pharmaciens à titre de propagande.

### 3° Campagnes antipaludiques expérimentales (en 1927, 1928 et 1929).

#### I. DÉPARTEMENT D'ALGER.

*Quinisation et mesures antilarvaires* : Arthur, Haouch Touta, Montebello, Reghaïa, Sidi Mahmed, Sidi Aïd, Suffren, Surcouf, Tablat.

*Quinisation* : Alma, Attatba, Baba Ali, Boghni, Bouira, Camp-du-Maréchal, Champlain, Dupleix, Fondouk, Fort-de-l'Eau, Gouraya, Haraoua, Oued Aïssi, Oued el Alleug, Pont-du-Caïd, Région de l'embouchure de la Reghaïa, Saint-Pierre-Saint-Paul, Zurich.

#### II. DÉPARTEMENT D'ORAN.

*Quinisation et mesures antilarvaires* : Tourville, Sainte-Léonie.

*Quinisation* : Abdellys, Aïn Tedelès, Bou Haniffa, Clinchant, de Malherbe, Dublineau, Ferme Blanche, Henri Huc, Hillil, Marnia, Mers el Kebir, Slissen, Sidi Chami.

#### III. DÉPARTEMENT DE CONSTANTINE.

*Quinisation et mesures antilarvaires* : Mondovi, Penthievre, Robertville, Redjas, Taher.

*Quinisation* : Aïn Mlila, Aïn Zatout, Batna (3 quartiers), Bled Gaffar, El Hanser, Djemila, El Kantara, Seraghna, Kroub, Mac-Mahon, Petit, Saint-Joseph.

Les directives de la prophylaxie palustre ont été données, sur la demande du Service de Santé, par le Service antipaludique, aux médecins militaires chargés de cette lutte dans les divisions d'Alger, d'Oran et de Constantine.

ENQUÊTES. — En 1927, 1928, 1929, le Service antipaludique a effectué, dans les 3 départements, 44 enquêtes demandées par le Gouvernement général, les communes, les médecins ou les particuliers, et 281 tournées d'inspection.

#### 4° Enseignements tirés de l'étude expérimentale des méthodes prophylactiques.

On peut tirer, de l'épreuve à laquelle ont été soumises les diverses méthodes antipaludiques durant ces dernières années, les enseignements suivants :

MODE DE MESURE DE L'ENDÉMIE PALUSTRE. — Pour apprécier les résultats de la prophylaxie, le procédé le plus simple consiste à observer l'assainissement progressif obtenu « dans le temps » dans une même localité. Mais le jugement que l'on peut ainsi porter est troublé par le fait bien connu, et particulièrement mis en évidence par Celli, de la recrudescence et de l'affaiblissement périodiques de la pandémie palustre, suivant un cycle pluri-annuel. C'est pourquoi nous avons toujours pris soin, dans nos recherches, d'avoir des témoins « dans l'espace », contemporains. L'assainissement que l'on peut qualifier de spontané des centres algériens, qui est dû à l'enrichissement du pays, ne trouble pas sensiblement la comparaison, car ce facteur agit à la fois dans les localités traitées et dans les localités témoins. De plus, cet assainissement naturel est extrêmement lent, et tandis que l'on voit s'assainir d'une façon satisfaisante en quelques années (cinq à dix ans) telle localité où une campagne systématique énergique a été alimentée par des subsides suffisants, dans le même temps les localités témoins gardent leur réservoir de virus presque intact et, par suite, les cas de première invasion reparaissent chaque année à peu près dans les mêmes proportions.

En l'absence de statistique précise des cas de paludisme en Algérie, on s'est rendu compte des résultats obtenus en comparant les index endémiques relevés au début et à la fin des campagnes expérimentales. Sous l'influence des mesures prises, l'index splénométrique diminue du printemps à l'automne; au contraire, il augmente dans les localités fiévreuses, non traitées, servant de témoins. D'autre part, les médecins de colonisation ou communaux qui nous ont prêté leur collaboration signalent une différence très nette de gravité entre les cas constatés dans les localités traitées et les cas constatés dans les localités non traitées, témoins. L'effet des mesures antipaludiques se traduit donc non seulement par la diminution du nombre des porteurs de germes et la diminution consécutive des cas de contagion, mais aussi par l'abaissement de la gravité des accès observés.

DANGER DES MIGRATIONS NON SURVEILLÉES DES INDIGÈNES PALUDIENS. — Chaque année se répète la constatation de faits déplorables que nous avons souvent, depuis longtemps, signalés : certaines localités, assainies grâce à une expérience de prophylaxie bien surveillée, présentent, après l'arrêt de l'expérience, une recrudescence de paludisme, à la suite de l'apport d'un virus palustre étranger, contenu dans le sang de familles indigènes immigrées et provenant de l'une de ces innombrables localités où la lutte antipaludique n'a pas encore pu être organisée, faute de crédits. Le danger du colportage du virus à travers l'Algérie par les émigrants temporaires, ouvriers agricoles, des mines, des chantiers des routes, des chemins de fer et des grands travaux d'hydraulique, mérite d'attirer l'attention des pouvoirs publics.

PALUDISME, MALADIE LOCALE AU SENS GÉOGRAPHIQUE DU MOT. — Il ressort de toutes les recherches de contrôle une notion fondamentale trop souvent méconnue, qu'il est important de signaler une fois de plus : un foyer palustre constitué grâce à la proximité d'un réservoir de virus et de gîtes à anophèles est dangereux pour un cercle qui mesure 2 à 3 kilomètres de rayon. Par suite, les mesures antipaludiques qui amendent le réservoir de virus et qui restreignent les gîtes à anophèles d'une localité n'étendent pas leur action efficace à plus de 2 ou

3 kilomètres; l'assainissement d'un village ne profite donc pas directement à l'assainissement d'un autre village situé à quelques kilomètres de distance.

NÉCESSITÉ D'AUGMENTER LA DOSE DE QUININE PRÉVENTIVO-CURATIVE DANS LES ANNÉES OÙ LES CONDITIONS MÉTÉOROLOGIQUES DEVIENNENT PLUS DÉFAVORABLES. — En 1927, les cas de paludisme sont devenus si rares, dans certains villages bénéficiant de la prophylaxie, que les médecins de circonscription déclarèrent que l'on pouvait, dorénavant, y suspendre la lutte antipaludique.

En 1928, en raison des conditions météorologiques exceptionnelles, l'index splénométrique a subi, en général, même dans les localités défendues, une élévation qui ne s'était pas produite les années précédentes. De ce fait, on a pu tirer un enseignement : la dose de quinine préventivo-curative à administrer aux anciens infectés doit être augmentée lorsque les conditions météorologiques font prévoir une recrudescence de l'épidémie. Cette augmentation fut réalisée en 1929, et effectivement on constata que l'endémie palustre, cette année-là, fut moins grave dans les régions quininisées que dans les régions non quininisées des mêmes circonscriptions médicales.

EFFICACITÉ RÉELLE DE LA PROPHYLAXIE PALUSTRE LORSQUE L'ON PEUT EN FAIRE LES FRAIS. — Depuis l'année 1902, des champs d'épreuve et de démonstration contrôlés de près ont été organisés, au nombre de 6 ou 7 suivant les années, dans les localités les plus fiévreuses de l'Algérie entière. Ce n'est pas seulement la réputation bien établie d'insalubrité qui a guidé le choix de l'emplacement de ces centres d'essais; on s'est toujours basé sur les données numériques fournies par les index paludiques. Très souvent, l'index paludique des champs de démonstration était, au début de nos recherches, de 100 p. 100; jamais il n'a été inférieur à 50 p. 100. Toutes les méthodes prophylactiques, que l'on proposait dans le monde entier ou que l'on imaginait sur place, ont été mises à l'épreuve, en particulier la chimiothérapie préventivo-curative dirigée contre le paludisme, les mesures défensives et offensives dirigées contre le moustique. Au bout d'un nombre d'années, variable suivant les conditions locales, l'étendue des gîtes à anophèles, le renouvellement du



réservoir de virus par l'arrivée de porteurs de germes, les circonstances atmosphériques, on a vu l'index paludique baisser progressivement, jusqu'à un chiffre faible mais irréductible de l'index splénique et à un chiffre tout à fait négligeable de l'index plasmodique. C'est un fait d'expérience que lorsque l'index paludique est descendu au-dessous de 10 p. 100, les risques de la contagion sont très réduits, les années où les conditions météorologiques sont normales. Par suite, les champs de démonstration où cet abaissement de l'index paludique de 50 p. 100 (au minimum) à 10 p. 100 (au maximum) s'est produit ont été considérés comme assainis; l'expérience a été arrêtée ou plutôt transportée dans une autre localité. Nous pouvons citer comme localités qui ont été assainies et où la campagne a été suspendue sur la demande du médecin : Beni Messous (à Chéragas), Gouraya, plusieurs douars des communes de Birtouta et d'Aïn Taya, Brazza, Vauban, dans le département d'Alger; Mac-Mahon, dans le département de Constantine; Slissen, Mers el Kebir, Sonis, Hillil et Clinchant dans le département d'Oran. On peut donc tirer de ces minutieuses études expérimentales, soumises à un contrôle et à des épreuves multiples, que les méthodes modernes de prophylaxie sont efficaces et qu'elles *accélèrent* l'assainissement spontané qui, dans les conditions naturelles, s'opère lentement. Mais, par la nature même des ennemis à combattre : moustique ubiquitaire, virus extrêmement répandu en Afrique du Nord, le coût de la prophylaxie est élevé. La généralisation des succès enregistrés est donc une question budgétaire. Pour certains détails, tels que le contrôle des migrations des ouvriers indigènes paludéens, c'est aussi une question administrative.

En conclusion, les expériences organisées dans les champs de démonstration et suivies de très près ont montré la *possibilité* d'assainir un pays fiévreux, c'est-à-dire d'y tarir le réservoir de virus ou du moins de le réduire à un taux négligeable. Elles ont mis en lumière les avantages et les imperfections de chacune des diverses méthodes prophylactiques qu'a suggérées la connaissance de l'étiologie si complexe du paludisme; elles ont montré comment on peut les associer pour en obtenir un meilleur résultat.

## III. — ENSEIGNEMENT

Le Service antipaludique de l'Institut Pasteur a vulgarisé les connaissances actuelles sur les causes du paludisme et les méthodes de prophylaxie par des conférences aux médecins de colonisation, aux médecins militaires et aux officiers des Territoires du Sud, aux étudiants de la Faculté d'Alger, aux élèves instituteurs de l'École Normale de la Bouzaréa, aux élèves institutrices des Écoles Normales des trois départements, aux élèves de la Croix-Rouge (S. B. M.), d'un certain nombre d'écoles primaires, avec projection de films et de clichés, distribution de rapports, de brochures, d'affiches et de tracts, du *Précis du paludisme* et du *Livre de la bonne santé* (Kitab eç-çiha) du D<sup>r</sup> Parrot.

# ÉTUDE DE NOUVEAUX MICROBES PATHOGÈNES POUR LA PYRALE DU MAÏS

(QUATRIÈME MÉMOIRE)

par S. METALNIKOV, J. ERMOLAEVA et SKOBELZYNE.

Dans le courant de l'année, nous avons continué l'étude des maladies des chenilles de la pyrale du maïs. Nous avons reçu des milliers de chenilles de différents pays : du Canada, de Yougoslavie, d'Italie et de plusieurs régions de la France.

Ce sont surtout les chenilles que nous avons reçues des Pyrénées qui nous ont donné les résultats les plus intéressants. Grâce à l'obligeance de M. le Dr Parker nous avons reçu plus de 2.000 chenilles des environs de Pau. Toutes étaient gravement malades ou mourantes : c'était une véritable épizootie.

En examinant les chenilles mortes nous avons pu toujours distinguer trois types de cadavres ; les uns — et c'étaient les plus nombreux — étaient complètement noirs, les autres bruns et les troisièmes légèrement colorés en rose. L'étude microscopique des microbes que nous avons isolés de ces trois types de cadavres nous a montré que nous avions affaire à trois différentes maladies, causées par des microbes différents.

Nous donnons ici la description de quelques nouveaux microbes intéressants provoquant ces maladies mortelles.

*Bacterium pyrenesi* (noir) [1]. — Ce microbe a été isolé des chenilles mortes noires que nous avons reçues des Pyrénées. Il était toujours associé aux microcoques et coccobacilles peu virulents.

MORPHOLOGIE. — C'est un bâtonnet long, sporulé ; Gram positif. Les spores sont ovoïdes et ne se forment pas au milieu de ce microbe mais vers son extrémité. C'est un microbe anaérobie facultatif. La température qui lui est la plus favorable

(1) Nous avons donné à ces microbes des noms provisoires en attendant l'analyse complète.

est 25°-30°. Ce microbe pousse très bien à la température du laboratoire.

*Caractères des cultures.* — Le microbe pousse bien sur bouillon ordinaire. Vingt-quatre heures après l'ensemencement il donne un trouble homogène. Après quarante-huit heures se forment un anneau et une pellicule qui tombent au fond. Sur gélose le microbe donne une pellicule sèche à bords irréguliers. Le lait est coagulé en deux-trois jours. Le lait tournesolé ne se décolore pas. Le petit-lait se décolore vers le cinquième jour. Sur pomme de terre il donne une couche jaunâtre.

Le sérum coagulé est liquéfié. Pas d'action sur le blanc d'œuf. Notre microbe fait fermenter sans production de gaz : le saccharose, le glucose, le lévulose; très peu le maltose et il n'agit pas sur le galactose, le lactose et sur la mannite.

*Action sur les insectes.* — C'est un des microbes les plus virulents que nous ayons eu en notre possession. Les chenilles de *Pyrausta* et d'autres lépidoptères, infectées *per os* par une souche virulente, mouraient souvent en dix-quinze heures. Les chenilles mortes prenaient toujours une teinte noire foncée. Comme nous l'avons vu, ce microbe a provoqué une épizootie, la plus terrible sur les *Pyrausta*. Plus de 2.000 chenilles venant des environs de Pau étaient attaquées par ce microbe.

*Bacterium pyrenei (brun).* — Ce microbe fut isolé des chenilles mortes de teinte brune. Il était toujours associé à deux-trois microbes peu virulents (microcoques et bacilles) dont nous ne donnerons pas la description ici.

**MORPHOLOGIE.** — Grand bâtonnet sporulé très mobile; Gram positif. Les spores ovoïdes se forment au milieu. Il pousse très bien à la température du laboratoire et à 25°-30°. Après vingt-quatre heures il donne un trouble dans le bouillon ordinaire. Après quarante-huit heures se forment un anneau et une pellicule.

Ce microbe donne sur gélose une pellicule sèche, opaque, un peu brillante.

Il tue les chenilles de *Pyrausta per os* en vingt à vingt-quatre heures.

Les chenilles mortes prennent une teinte brune.



***Bacterium pyrenæi* (rose).** — Ce microbe fut isolé des chenilles de *Pyrausta* ayant pris après la mort une teinte brun rosâtre.

C'est un grand bâtonnet aux bouts arrondis; mobile, sporulé, Gram positif. Les spores ovoïdes se forment au milieu du microbe. Il pousse bien sur bouillon ordinaire et donne un anneau et une pellicule à la surface.

Sur gélose, il donne une membrane sèche et opaque.

Ce microbe est très virulent pour les chenilles de *Pyrausta* qu'il tue *per os* en vingt-quatre heures.

Nous avons eu l'occasion de recevoir encore un lot de chenilles très malades des Pyrénées (des environs de Cazaubon). La plus grande partie de ces chenilles étaient mortes et nous avons isolé de ces cadavres deux microbes d'une grande virulence :

***Bacterium cazaubon* n° 1.** — Ce microbe fut isolé des chenilles mortes noires reçues des Pyrénées.

**MORPHOLOGIE.** — Grand bâtonnet dont les bouts sont découpés, immobile, sporulé; Gram positif. Les spores, ovoïdes, se forment au milieu.

**Caractères des cultures.** — Le microbe pousse bien à la température de 25°-30° et à celle du laboratoire. Il donne un trouble homogène dans le bouillon et forme en vingt-quatre à quarante-huit heures un dépôt au fond du tube. Sur gélose, il donne une membrane mate, sèche, qui forme des plis à la surface. Sur pomme de terre il donne une couche sèche, mate. Pas d'action sur le blanc d'œuf. Dans l'eau peptonée il ne donne pas d'indol. Notre microbe fait fermenter sans production de gaz le glucose et le galactose, très peu le saccharose, le lévulose, la maltose et la mannite et il n'agit pas sur le lactose. C'est un microbe des plus virulents. Il tue les chenilles *per os* en dix à douze heures.

***Bacterium cazaubon* n° 2.** — Ressemble beaucoup par ses caractères morphologiques et physiologiques au microbe précédent. Il est très virulent pour les *Pyrausta* et ne diffère de l'autre microbe que par des caractères insignifiants.

Nous avons eu l'occasion d'étudier les *Pyrausta* malades que nous avons reçues d'Italie. Ces chenilles nous ont donné des microbes très intéressants dont nous donnons la description ci-dessous :

***Bacterium italicum* n° 1.** — Ce microbe fut isolé de chenilles de *Pyrausta* ayant pris, après la mort, une teinte foncée.

**MORPHOLOGIE.** — Ce microbe se présente sous la forme d'un grand bâtonnet aux bouts arrondis, mobile, sporulé, Gram positif. Les spores se forment vers les bouts des bâtonnets.

**Caractères de cultures.** — Le microbe pousse bien à la température du laboratoire. Il donne un trouble homogène dans le bouillon. Sur gélose, il forme une couche mate. Il pousse bien sur pomme de terre et donne une couche humide.

Le lait est coagulé au bout de vingt-quatre heures. Le lait tournesolé est coagulé sans décoloration. La liquéfaction du sérum coagulé commence un-deux jours après l'ensemencement. Pas d'action sur le blanc d'œuf. Notre microbe fait fermenter sans production de gaz : lévulose, maltose, lactose; très peu mannite et galactose.

Ce microbe est très virulent pour les chenilles de *Pyrausta*; il les tue en vingt à vingt-quatre heures.

***Bacterium italicum* n° 2.** — C'est un bâtonnet très mobile, allongé, sporulé. Vingt-quatre heures après l'ensemencement on trouve dans ces bâtonnets des formations très curieuses : ce sont des granules assez grands, qui se colorent en rouge par le bleu de méthylène phéniqué. Après deux-trois jours, ces granules disparaissent complètement. Il se forme alors des spores ovoïdes. Ce microbe pousse très bien sur le bouillon ordinaire; sur gélose il donne une membrane très légère et transparente. Sur pomme de terre il pousse bien et donne une membrane brillante et humide. Notre microbe fait fermenter : saccharose, glucose, lévulose, maltose, galactose et mannite mais n'agit pas sur lactose et glycérine.

Les chenilles de *Pyrausta* et de *Galleria* inoculées avec ce microbe meurent assez vite, mais elles résistent bien à l'infection par la voie buccale.

*Bacterium italicum* n° 3. — Ce microbe est surtout intéressant par sa structure. Il est très polymorphe. Tantôt il a la forme d'un coccobacille, tantôt il prend la forme d'un grand bâtonnet épais. Il forme des spores souvent aux deux bouts, après quoi il se divise en deux parties. Le Gram est positif. Sur gélose il donne une couche sèche et brillante. Après trois-quatre jours, la gélose acquiert une teinte brun-noir.

Finalement nous avons isolé de ces chenilles deux champignons très curieux et plusieurs staphylocoques blancs, roses et jaunes.

Dernièrement nous avons isolé plusieurs microbes de *Pyrausta* que nous avons reçues de Russie. Comme chez toutes les autres chenilles, nous avons trouvé, à côté de microbes avirulents, un bâtonnet sporulé, Gram positif, très virulent.

Voici la liste des microbes les plus virulents que nous avons isolés jusqu'à présent des chenilles de différentes provenances. Nous laissons de côté les microbes peu virulents ne présentant pas un intérêt pratique. Nous n'indiquons que les microbes qui tuent les chenilles *per os*.

TABLEAU I.

*Microbes très virulents isolés des Pyrausta malades :*

1. <i>Vibron leonardi</i> (environs de Paris) . . . . .	+++
2. <i>Coccob. ellingeri</i> (environs de Paris) . . . . .	+++++
3. <i>Bact. canadensis</i> (Canada) . . . . .	++
4. <i>Bact. pyrenei</i> (noire) [environs de Pau] . . . . .	+++++
5. <i>Bact. pyrenei</i> (brune) [environs de Pau] . . . . .	+++++
6. <i>Bact. pyrenei</i> (rose) [environs de Pau] . . . . .	+++++
7. <i>Bact. cazaubon</i> , n° 1 (environs de Pau) . . . . .	+++++
8. <i>Bact. cazaubon</i> , n° 2 (environs de Pau) . . . . .	+++++
9. <i>Bact. italicum</i> , n° 2 (Italie) . . . . .	+++
10. <i>Bact. russe</i> (Russie) . . . . .	+++

*Microbes isolés d'autres insectes :*

11. <i>Bact. galleriæ</i> , n° 2 (Paris) . . . . .	+++++
12. <i>Bact. thuringiensis</i> (Paris) . . . . .	+++++

Nous avons fait cette année des centaines d'expériences sur les chenilles pour bien vérifier la virulence des microbes et surtout pour chercher la méthode pratique à employer pour conserver cette virulence.

En général, les microbes isolés récemment sont plus virulents que ceux qui ont été cultivés depuis longtemps sur des milieux nutritifs. Même les microbes sporulés très résistants perdent petit à petit leur virulence. *Bacterium canadensis*, qui tuait, l'an dernier, les chenilles de *Pyrausta* aussi bien que les *B. galleriæ* et *B. thuringiensis*, a perdu très sensiblement sa virulence cette année bien qu'il ait été cultivé sur les mêmes milieux que ceux-ci.

Les microbes que nous avons isolés des chenilles reçues des Pyrénées nous ont donné les meilleurs résultats. Ces microbes ont tué les chenilles *per os* en douze, vingt heures, tandis que tous les autres les tuaient en vingt-trente heures.

A titre d'exemple nous citerons ici quelques-unes de nos expériences :

EXPÉRIENCE 50. — 10 chenilles de *Pyrausta* sont infectées *per os* avec une culture de *B. pyrenei* (noire) sur bouillon de vingt-quatre heures.

Quinze-vingt heures après le commencement de l'expérience toutes les chenilles sont mortes.

EXPÉRIENCE 51. — 10 chenilles de *Pyrausta* ont mangé des tiges d'armoise mouillées dans une émulsion de *B. pyrenei* (noir); culture de vingt-quatre heures sur gélose ordinaire.

Après quinze-vingt heures toutes les chenilles sont mortes.

EXPÉRIENCE 54. — 10 chenilles de *Pyrausta* ont mangé des tiges d'armoise mouillées dans une émulsion de *B. pyrenei* (brun). Culture de vingt-quatre heures sur gélose ordinaire.

Vingt-trente heures après toutes les chenilles sont mortes.

EXPÉRIENCE 56. — 5 chenilles de *Pyrausta* sont infectées *per os* avec une émulsion de *B. pyrenei* (rose). Culture de vingt-quatre heures sur gélose ordinaire.

Après vingt-quatre heures toutes les chenilles sont mortes.

EXPÉRIENCE 60. — 5 chenilles de *Pyrausta* sont infectées *per os* avec une émulsion de *B. pyrenei* (rose). Culture de vingt-quatre heures sur gélose ordinaire.

Après vingt-quatre-quarante heures toutes les chenilles sont mortes.

EXPÉRIENCE 61. — 10 chenilles de *Pyrausta* sont infectées *per os* avec une émulsion de *B. cazaubon* n° 1. Les tiges d'armoise sont mouillées pendant une demi-heure dans une émulsion de *B. cazaubon* (culture de vingt-quatre heures sur gélose ordinaire).

Après douze-quinze heures toutes les chenilles sont mortes.



EXPÉRIENCE 61. — 10 chenilles de *Pyrausta* sont infectées *per os* avec une culture de *B. cazaubon* n° 2 (culture de vingt-quatre heures sur gélose ordinaire).

Après quinze-vingt heures toutes les chenilles sont mortes.

EXPÉRIENCE 65. — 3 chenilles de *Pyrausta* sont infectées *per os* avec une culture de vingt-quatre heures de *B. italicum* n° 1.

Après vingt quatre heures toutes les chenilles sont mortes.

EXPÉRIENCE 66. — 10 chenilles sont infectées avec une émulsion de *B. russe* (culture de vingt-quatre heures sur gélose ordinaire).

Après vingt-quatre-quarante-huit heures toutes sont mortes.

### MILIEUX DE CULTURE.

En continuant nos travaux sur les maladies microbiennes de *Pyrausta* nous avons cherché les milieux et les méthodes les plus pratiques pour préparer les microbes en très grande quantité.

Les milieux préparés sur bouillon de viande coûteraient trop cher, c'est pourquoi nous avons donné la préférence aux milieux végétaux.

Nous avons commencé par le bouillon de pomme de terre : Nous avons pris 300-500 grammes de pommes de terre que nous avons coupées en petits morceaux et laissé macérer une-deux heures dans 1 litre d'eau, et que nous avons fait bouillir ensuite pendant vingt minutes. Après avoir passé le liquide dans un tamis ou un linge, nous y avons ajouté de la peptone (1 p. 100) et du glucose (0,25 p. 100), puis nous avons stérilisé, neutralisé ( $pH = 7,2$ ), etc., comme d'habitude. Avec ce bouillon nous avons préparé des milieux liquides et solides en ajoutant de la gélose.

Nous avons d'abord essayé quatre milieux liquides que nous avons préparés, à base de bouillon de pomme de terre :

1° Bouillon de pomme de terre pur.

2° Bouillon de pomme de terre + glucose (1 p. 100).

3° Bouillon de pomme de terre + peptone (1 p. 100).

4° Bouillon de pomme de terre + peptone (1 p. 100) + glucose (1 p. 100).

Nous avons utilisé, comme d'habitude, la tige de l'armoise (*Artemisia vulgaris*) pour nourrir les chenilles de *Pyrausta*. Avant de donner les tiges d'armoise aux chenilles, par petits

morceaux de 2 à 3 centimètres de long, nous les avons mouillées avec une culture faite sur bouillon pur ou sur bouillon additionné de différentes substances nutritives.

Voici les résultats de nos expériences faites avec des cultures de *B. thuringiensis* de quarante-huit heures. Nous avons pris 10 chenilles pour chaque expérience.

	24 HEURES		48 HEURES	
	Mortes	Vivantes	Mortes	Vivantes
I. Bouillon ordinaire . . . . .	5	5	10	»
II. Bouillon pomme de terre . . . . .	6	4	10	»
III. Bouillon pomme de terre + peptone. . . . .	8	8	10	»
IV. Bouillon pomme de terre + peptone + glucose . . . . .	3	7	8	2
V. Bouillon pomme de terre + glucose. . . . .	5	5	7	3

Nous avons répété les mêmes expériences avec des cultures de *B. galleriæ* n° 2.

	24 HEURES		48 HEURES	
	Mortes	Vivantes	Mortes	Vivantes
I. Bouillon ordinaire . . . . .	10	»	»	»
II. Bouillon pomme de terre . . . . .	10	»	»	»
III. Bouillon pomme de terre + peptone. . . . .	9	1	10	»
IV. Bouillon pomme de terre + glucose . . . . .	4	6	4	8
V. Bouillon pomme de terre + peptone + glucose . . . . .	5	5	6	4

Ces expériences nous démontrent que les meilleurs résultats furent obtenus avec le mélange B. pomme de terre + peptone. Le glucose, au contraire, paraît-il, diminue la virulence et cependant toutes les cultures que nous avons faites avec le glucose donnaient toujours une culture plus riche en microbes que celles faites sans glucose.

Puisque la fermentation du glucose est accompagnée de la production d'acide, nous avons pensé que c'est cet acide qui diminue la virulence de la culture.

Les expériences qui suivent démontrent l'exactitude de notre hypothèse. La neutralisation des acides par les sels de calcium,

ou même la diminution de la quantité de glucose, a renforcé la virulence des cultures d'une manière très sensible.

Voici quelques-unes de nos expériences faites avec le *B. thuringiensis* :

	24 HEURES		48 HEURES	
	Mortes	Vivantes	Mortes	Vivantes
I. Bouillon pomme de terre . . . . .	3	3	5	1
II. Bouillon pomme de terre + peptone. . . . .	2	4	6	»
III. Bouillon pomme de terre + peptone + glucose + calcium . . . . .	5	1	6	»
IV. Bouillon pomme de terre + peptone + glucose (0,25 p. 100). . . . .	4	2	6	»

Nous avons fait d'autres expériences avec d'autres milieux végétaux préparés à base de levure et de son; les résultats ont été très favorables.

Nous avons pris 50, 100 grammes de levure pour 1 litre d'eau. Après avoir laissé macérer pendant une heure, nous l'avons fait bouillir pendant vingt minutes.

Après avoir passé le liquide dans un tamis ou un linge, nous y avons ajouté de la peptone (1 p. 100) et du glucose (0,25 p. 100). Le mélange fut stérilisé à 115° pendant dix minutes et neutralisé ( $pH = 7,2$ ).

Avec ce bouillon nous avons préparé des milieux liquides et solides qui ont donné les résultats suivants :

*Culture de B. galleriæ n° 2, sur bouillon de levure :*

	48 HEURES		3 JOURS	
	Mortes	Vivantes	Mortes	Vivantes
I. Bouillon levure pure . . . . .	10	»	»	»
II. Bouillon levure + peptone + glu- cose . . . . .	9	4	10	»
III. Bouillon levure + glucose . . . . .	5	5	8	2
IV. Gélose-levure . . . . .	10	»	»	»

Nous avons essayé plusieurs autres milieux végétaux qui ont donné des résultats semblables. Toutes les expériences suivantes ont été faites sur milieux de pomme de terre additionnée de peptone (1 p. 100) et de glucose (0,25 p. 100).

## PRÉPARATION DES SPORES EN POUDRE.

Ainsi que nous l'avons vu, presque tous les microbes que nous avons isolés des *Pyrausta* malades sont sporogènes. C'est un grand avantage, car les spores sont très résistants, supportent bien des conditions défavorables et conservent bien leur virulence pendant des mois et peut-être même des années.

Pour préparer des spores en grande quantité, nous avons utilisé les grandes boîtes de Roux. En trois ou quatre jours toute la surface de la gélose était couverte d'une couche épaisse de microbes qui se transformèrent assez vite en spores. En raclant la surface avec un peu d'eau distillée (25-50 cent. cubes pour chaque boîte de Roux), nous avons pu ramasser de grandes quantités de spores pures en émulsion épaisse.

Pour réduire les spores à l'état de poudre fine, il faut ajouter aux émulsions du talc ou de la fécule (1/10 ou 1/5 du volume total) et dessécher le tout à l'étuve pendant vingt-quatre ou quarante-huit heures. En le triturant dans un mortier, on obtient des poudres très fines.

Nous avons ainsi préparé des poudres de *B. galleriæ* n° 2, *B. thuringiensis*, *B. pyrenei*, et d'autres microbes pathogènes.

Nous avons utilisé les spores, soit sous forme de poudre que nous avons pulvérisée sur les plantes, soit sous forme d'émulsion, facile à préparer en ajoutant aux spores sèches une quantité déterminée d'eau.

Toutes nos expériences ont été faites sur des chenilles de *Pyrausta*, très bien conservées l'hiver dans les tiges de maïs ou d'armoisé. Mais les chenilles ne mangent rien en hiver; les morceaux de tige de maïs dans lesquels elles étaient placées restaient souvent intacts. Et, cependant, les chenilles mouraient régulièrement si elles restaient en contact avec du maïs mouillé par les émulsions de spores ou de microbes. Cela s'explique facilement par le fait que les chenilles, si elles ne mangent pas, n'en continuent pas moins à absorber le liquide contenant les spores et les microbes.

Nous citerons quelques-unes de nos expériences :

EXPÉRIENCE 35. — 10 chenilles de *Pyrausta* sont placées dans un petit bocal avec des morceaux de tige de maïs couverts de spores sèches de *B. thuringiensis*.



Après vingt-quatre heures : 1 morte, 9 vivantes.

Après quatre jours : 4 mortes, 6 vivantes.

EXPÉRIENCE 36. — 10 chenilles sont placées dans un bocal avec des morceaux de tige de maïs mouillés et couverts de spores de *B. thuringiensis*.

Après vingt-quatre heures : 8 mortes, 2 vivantes.

Après quarante-huit heures : 10 mortes.

EXPÉRIENCE 37. — 5 chenilles sont mises en contact avec des morceaux de tige de maïs couverts de spores sèches de *B. thuringiensis*.

Après vingt-quatre heures : 1 morte, 4 vivantes.

Après trois jours : 2 mortes, 3 vivantes.

EXPÉRIENCE 38. — 5 chenilles sont mises en contact avec des morceaux de tige de maïs mouillés et couverts de spores sèches de *B. galleriæ*.

Après vingt-quatre heures, les 5 chenilles sont mortes.

EXPÉRIENCE 41. — 5 chenilles sont mises dans un bocal avec des morceaux de tige de maïs mouillés et couverts de spores (avec du talc) de *B. thuringiensis*, préparées depuis trois mois.

Après quarante-huit heures : 4 mortes, 1 vivante.

Après cinq jours : 5 mortes.

EXPÉRIENCE 43. — 5 chenilles sont mises en contact avec des morceaux de tige de maïs mouillés et couverts de spores de *B. thuringiensis*, préparées depuis six mois.

Après vingt-quatre heures : 2 mortes, 3 vivantes.

Après quarante-huit heures : 5 mortes.

Nous avons répété les mêmes expériences avec des spores préparées en émulsion dans l'eau distillée.

EXPÉRIENCE 47. — 10 chenilles sont mises en contact avec des morceaux de tige de maïs mouillés dans les émulsions de spores de *B. galleriæ* n° 2, préparées depuis trois semaines.

Après vingt-quatre-quarante heures, toutes les chenilles sont mortes.

EXPÉRIENCE 48. — 10 chenilles sont mises en contact avec des morceaux de tige de maïs mouillés dans une émulsion de *B. thuringiensis*, préparée depuis six semaines.

Après vingt-quatre-quarante heures, toutes les chenilles sont mortes.

EXPÉRIENCE 49. — 5 chenilles sont mises en contact avec des morceaux d'ar-moise mouillés dans une émulsion de *B. thuringiensis*, préparée depuis deux mois.

Après vingt-quatre-quarante-huit heures, toutes les chenilles sont mortes.

EXPÉRIENCE 50. — 5 chenilles sont mises en contact avec des morceaux d'ar-moise mouillés dans une émulsion de *B. galleriæ* n° 2, préparée depuis trois mois.

Après vingt-quatre-quarante-huit heures, toutes les chenilles sont mortes.

Toutes ces expériences nous démontrent que les spores de microbes se conservent très bien, pendant très longtemps, sans perdre ni leur vitalité ni leur virulence.

En terminant ce mémoire, nous voulons attirer l'attention sur un fait intéressant :

Il existe une différence très marquée entre les chenilles de *Pyrausta* et les chenilles des mites des abeilles (*Galleria mellonella*) que nous étudions depuis très longtemps.

Alors que les chenilles de *Pyrausta* sont extrêmement sensibles à toutes sortes de maladies infectieuses, les chenilles de *Galleria* se caractérisent par une résistance extraordinaire envers les microbes les plus dangereux (1). Nous avons vu avec quelle facilité les *Pyrausta* s'infectent par la voie buccale. Presque dans chaque région où nous avons étudié les *Pyrausta* nous avons pu isoler de ces insectes des microbes plus ou moins pathogènes pour eux. Au contraire, il est presque impossible d'infecter les chenilles de *Galleria* par la voie buccale; nous n'avons pu les voir malades ou mourant d'une infection microbienne naturelle que très rarement.

Quelle est la cause de cette différence? Nous pensons que les conditions dans lesquelles vivent ces deux insectes suffisent à nous en donner l'explication : les chenilles de *Pyrausta* vivent, comme on le sait, dans les tiges de maïs ou d'autres plantes; elles y passent presque toute leur existence et s'y trouvent bien protégées contre les microbes et autres parasites. Les chenilles de *Galleria* vivent dans les ruches et dans les vieux gâteaux de cire. Quand la nourriture leur manque elles mangent des ordures, leurs cadavres et même leurs propres excréments. Elles sont toujours entourées d'ennemis contre lesquels elles sont obligées de lutter continuellement. C'est ainsi que dans cette lutte pour l'existence elles exercent leurs moyens de défense à l'extérieur et à l'intérieur de leur organisme. De cette manière elles élaborent petit à petit une résistance — ou immunité — renforcée contre leurs ennemis et cette immunité devient héréditaire.

Nous observons la même chose dans les sociétés humaines :

(1) S. METALNIKOV : Infection microbienne et immunité chez les mites des Abeilles (*Galleria mellonella*), Masson, éditeur. Paris.

d'après des travaux récents, nous savons que les habitants des grandes villes sont beaucoup plus résistants envers certaines maladies — la tuberculose en particulier — que les peuples sauvages qui habitent loin des centres peuplés et n'ont pu exercer leurs moyens de défense dans la lutte contre les microbes.

Ces considérations concordent bien avec les idées du grand biologiste français Lamarck qui a fait connaître une loi fondamentale de la vie : l'exercice, le travail renforçant les organes et les fonctions; l'inaction, au contraire, affaiblit l'organisme et n'a abouti qu'à sa dégénération.

# COMPARAISON DE LA RÉSISTANCE DU MAÏS SUD-AFRICAÏN ET DU MAÏS AMÉRICAIN A L'INFECTION PAR LA PYRALE DU MAÏS

par T. ELLINGER et V. CHORINE.

La recherche d'une variété de maïs résistante à l'infection de la pyrale de maïs a évidemment une très grande importance. On a déjà fait un certain nombre d'expériences sur ce sujet. C'est ainsi que Roubaud (1) a trouvé que la race du maïs « Dent de cheval » présente une résistance considérable, comparativement à quelques autres sortes.

L'année dernière, Hase (2) est arrivé à conclure de ses observations qu'une race de maïs sud-africain « Natal » est douée d'une résistance assez marquée contre la pyrale du maïs.

Étant donnée l'importance de ces résultats, nous avons cru utile de répéter les expériences de Hase.

Nos expériences ont été faites à Keszthely (Hongrie) sur le champ d'expériences de l'Académie d'Agriculture.

Nous avons travaillé sur deux sortes de maïs :

1° « Natal » (3). Variété sud-africaine;

2° « Wallece ». Variété nord-américaine.

Nous avons choisi la race américaine pour qu'on puisse comparer la résistance de « Natal » avec celle d'une race sensible à l'infection de la pyrale du maïs.

Les deux sortes de plantes ont été placées dans le champ, dans un voisinage immédiat. Une longue rangée de plantes du maïs « Natal » était à côté de la rangée du maïs « Wallece » pour que les conditions extérieures (éclairage, humidité) fussent exactement pareilles. Chaque plante a été infectée avec 10 petites

(1) ROUBAUD (E.). Biological researches on *Pyrausta nubilalis* Hb. I. C. B. I., *Scientific Reports*. Chicago, vol. 1, 1928, p. 1-40.

(2) HASE (A.). Report on Corn Borer experiments, 1927-1928. I. C. B. I., *Reports*, vol. 2, 1929, p. 77-84.

(3) Les grains de Natal sont de même provenance que ceux de M. HASE, mais on n'a pas pu nous donner la certitude qu'ils étaient exactement de la même souche.



chenilles de *Pyrausta* sorties des œufs quelques heures avant.

Pour avoir des expériences dans des conditions aussi identiques que possible, nous avons infecté les plantes des deux sortes avec des chenilles, le même jour.

C'est ainsi que :

Le 25 juin, nous avons infecté 17 plantes de « Natal » et 17 plantes de « Wallece ».

Le 26 juin, nous avons infecté 67 plantes de « Natal » et 67 plantes de « Wallece ».

Le 27 juin, nous avons infecté 16 plantes de « Natal » et 16 plantes de « Wallece ».

De sorte que nous avons eu 100 plantes infectées de chaque variété.

La récolte du maïs a été faite le 11 septembre.

Chaque plante a été disséquée et le nombre de chenilles trouvées dans chacune d'elles a été compté.

Nous avons représenté les résultats obtenus par les chiffres moyens ci-dessous :

	NOMBRE de chenilles par plante	MORTALITÉ des chenilles p. 100
Variété « Wallece » . . . . .	1,66	83,4
Variété « Natal » . . . . .	0,86	91,4

Autrement dit : pour 100 chenilles qui se sont développées dans les plantes de « Wallece » il n'y a que 54 chenilles qui se soient développées dans les plantes du « Natal ».

La différence est donc d'un peu moins de 50 p. 100.

#### CONCLUSION.

Le maïs de la variété « Natal » est plus résistant à l'infection de la pyrale du maïs que le maïs de la variété « Wallece ».

D'ailleurs les plantes de « Natal » sont beaucoup plus fortes et souffrent moins de la présence des chenilles de *Pyrausta* que les plantes de « Wallece ».

Ce fait pourra avoir une certaine importance pour diminuer les ravages des récoltes, produits par la pyrale de maïs.

Le Gérant : G. MASSON.











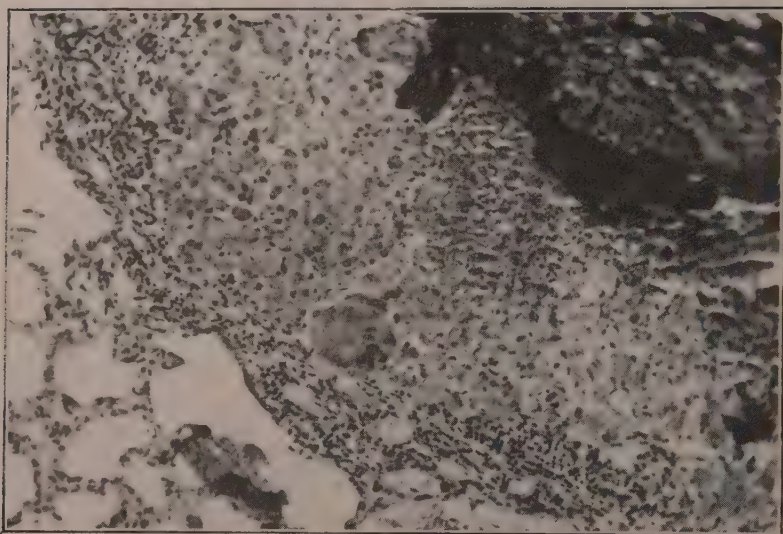


FIG. 5. — Aspect de la zone périphérique du tubercule pulmonaire isolé découvert chez le lapin 333 (grossissement : 400 diamètres).

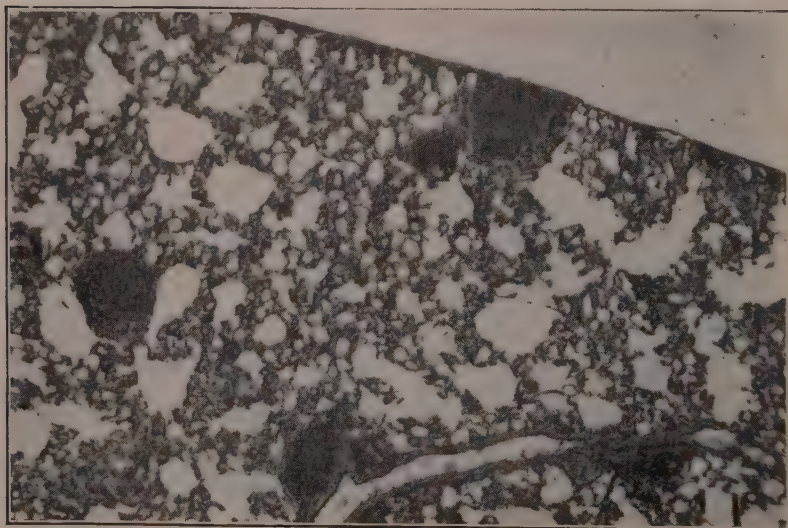


FIG. 6. — Lésions torpides du poumon découvertes chez le lapin 459 (grossissement : 40 diamètres).

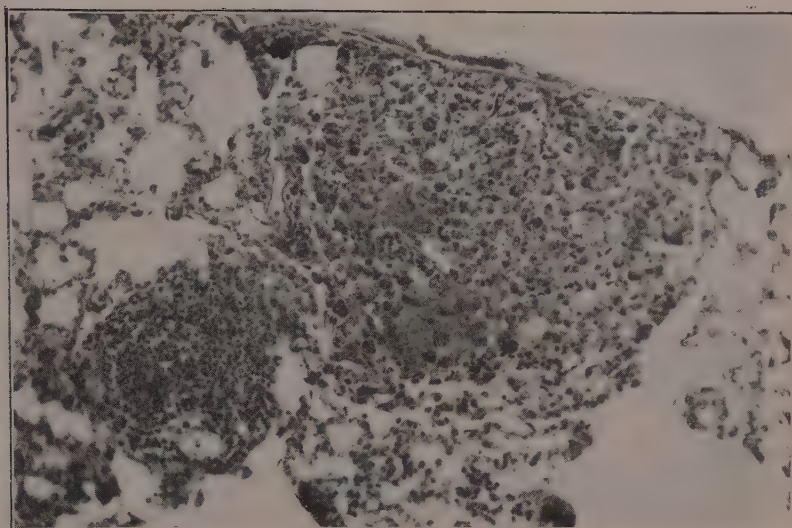


FIG. 7. — Un des tubercules pulmonaires découverts chez le lapin 459. A côté un tubercule purement lymphoïde (grossissement : 130 diamètres).

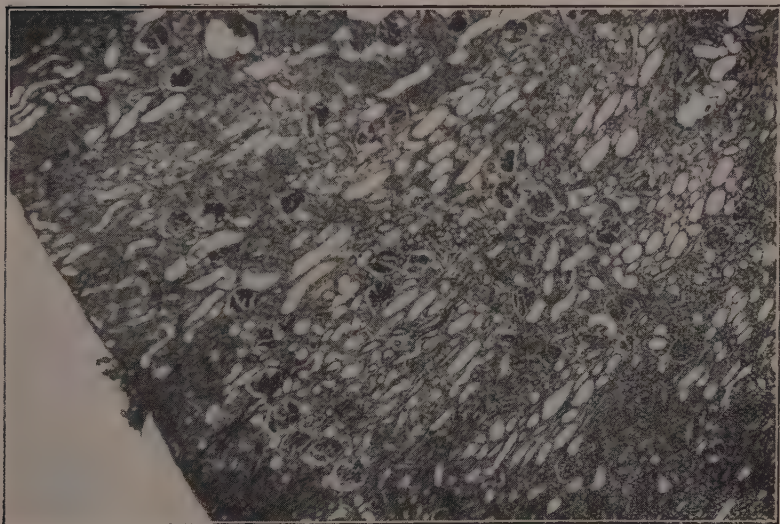


FIG. 8. — Lésion rénale corticale (distension des *tubuli contorti*), lapin 459 (grossissement : 25 diamètres).







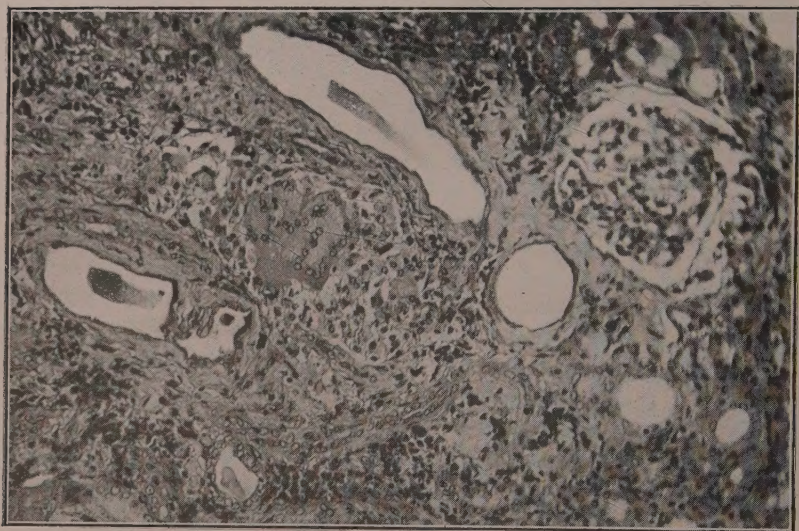


FIG. 9. — Détail de la figure précédente (grossissement : 200 diamètres).

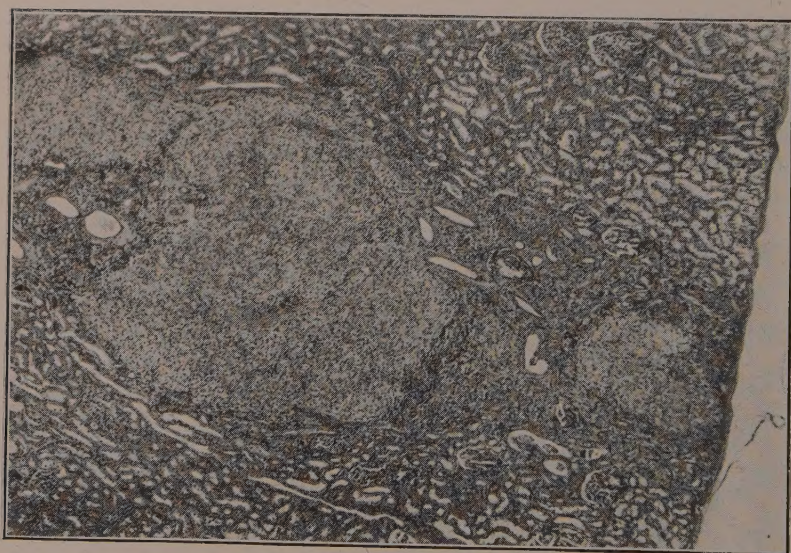


FIG. 10. — Lésions rénales tuberculeuses découvertes chez les lapins 100 bis (grossissement : 25 diamètres).



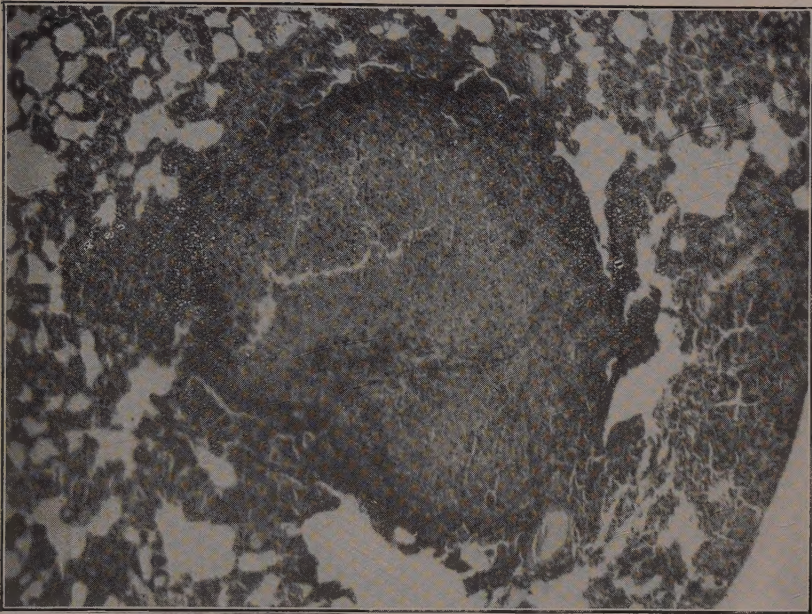


FIG. 11. — Tubercule pulmonaire isolé découvert chez le lapin 142  
(grossissement : 50 diamètres).

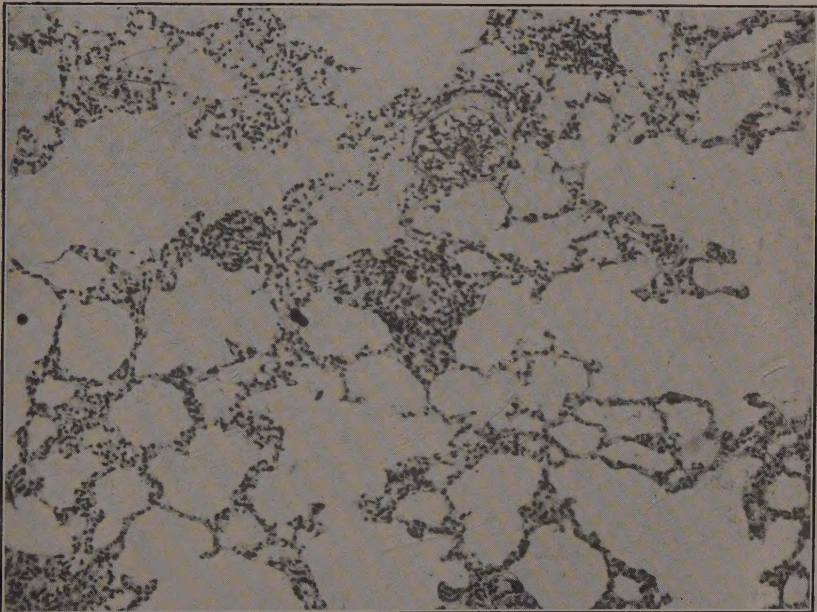


FIG. 12. — Aspect de tubercules pulmonaires en voie de régression.  
Ils sont uniquement constitués par des lymphocytes.

